



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

ANGÉLICA DEL PILAR LIZCANO MENESES

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E FREQUÊNCIA DE AUTOANTICORPOS
NEURONAIS EM UMA SÉRIE DE PACIENTES COM SUSPEITA DE ENCEFALITE
AUTOIMUNE E EM PACIENTES COM EPILEPSIA**

***CLINICAL CHARACTERISTICS AND FREQUENCY OF NEURONAL
AUTOANTIBODIES IN A SERIES OF PATIENTS WITH AUTOIMMUNE
ENCEPHALITIS AND IN PATIENTS WITH EPILEPSY***

**CAMPINAS
2020**

ANGELICA DEL PILAR LIZCANO MENESES

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E FREQUÊNCIA DE AUTOANTICORPOS
NEURONAIS EM UMA SÉRIE DE PACIENTES COM SUSPEITA DE ENCEFALITE
AUTOIMUNE E EM PACIENTES COM EPILEPSIA**

***CLINICAL CHARACTERISTICS AND FREQUENCY OF NEURONAL
AUTOANTIBODIES IN A SERIES OF PATIENTS WITH AUTOIMMUNE
ENCEPHALITIS AND IN PATIENTS WITH EPILEPSY***

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para a obtenção
do título de Doutora em Ciências

*Thesis presented to the Faculty of Medical
Sciences of the State University of Campinas as
part of the requirements required to obtain the title
of Doctor in Sciences.*

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO CENDES

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
ANGELICA DEL PILAR LIZCANO MENESES, E
ORIENTADA PELO PROF. DR. FERNANDO CENDES.

**CAMPINAS
2020**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

L768c Lizcano, Angélica, 1979-
Características clínicas e frequência de autoanticorpos neuronais em uma série de pacientes com suspeita de encefalite autoimune e em pacientes com epilepsia / Angélica del Pilar Lizcano Meneses. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Fernando Cendes.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Encefalite. 2. Epilepsia. 3. Doenças autoimunes. 4. Valor preditivo dos testes. I. Cendes, Fernando, 1962-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Clinical characteristics and frequency of neuronal autoantibodies in a series of patients with autoimmune encephalitis and in patients with epilepsy

Palavras-chave em inglês:

Encephalitis

Epilepsy

Autoimmune diseases

Predictive value of tests

Área de concentração: Fisiopatologia Médica

Titulação: Doutora em Ciências

Banca examinadora:

Fernando Cendes [Orientador]

Carlos Eduardo Soares Silvado

Lécio Figueira Pinto

Carlos Alberto Montovani Guerreiro

Ana Carolina Coan

Data de defesa: 19-02-2020

Programa de Pós-Graduação: Fisiopatologia Médica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-0694-9423>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/6756155589970757>

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO
ANGÉLICA DEL PILAR LIZCANO MENESES

ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO CENDES

MEMBROS:

- 1. PROF. DR. FERNANDO CENDES**
 - 2. DR. CARLOS EDUARDO SOARES SILVADO**
 - 3. DR. LÉCIO FIGUEIRA PINTO**
 - 4. DR. CARLOS ALBERTO MONTOVANI GUERREIRO**
 - 5. PROFA. DRA. ANA CAROLINA COAN**
-

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 19 de fevereiro de 2020

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, a meus pais, que no céu e na terra sempre me apoiaram em minha formação acadêmica, especialmente minha mãe; e, finalmente, meu marido e filhos, que são minha força e me motivam a continuar alcançando meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Fernando, meu orientador, que me apoiou e confiou em mim, apesar da distância. Desde que eu o conheço, ele tem sido uma referência do que eu desejo ser e quero fazer.

A Felipe von Glehn, com quem iniciei essa imersão no mundo da neuroimunologia.

A Adriel, Dra. Leonilda, toda a equipe do IB e genética, obrigada pela colaboração, por contribuir com o desenvolvimento deste trabalho e por tantas experiências.

Ao pessoal do LNI, EEG e neurologia, residentes e professores, que contribuíram durante esse período.

A Renata, pela ajuda durante o processamento do trabalho.

A Milena e Cassiana, amigas que sempre me deram hospitalidade e ânimo nesse projeto.

A Sonia, quem ajudou para que a distância não fosse um impedimento.

Aos pacientes, que contribuem para esclarecer essas novas doenças, e para quem nós trabalhamos.

E sempre minha família, que é meu apoio espiritual, suportou minha ausência e me incentivou a seguir em frente.

EPÍGRAFE

A ciência é composta de erros que, por sua vez, são os passos em direção à verdade.

Julio Verne

RESUMO

Introdução. O espectro clínico da encefalite autoimune e da epilepsia autoimune ainda não está totalmente explorado. Fazer a pesquisa destes anticorpos em nosso meio custa caro e nem sempre é disponível, pelo qual não é possível fornecer tratamento precoce adequado. Portanto, é preciso ter critérios sólidos para priorizar quais são os pacientes para os quais indicaremos a pesquisa destes autoanticorpos.

Objetivo. Caracterizar o perfil clínico, eletroencefalográfico e de imagem de pacientes com: encefalite autoimune confirmada e epilepsia autoimune.

Métodos. Estudo observacional, retrospectivo de maio/2011-maio/2017. Foram analisados dados clínicos, de EEG e de RM cerebral de 302 pacientes de todas as idades e incluídos em dois grupos: grupo-1: possível encefalite autoimune, e grupo-2: epilepsia estabelecida. Foram coletadas amostras de soro e analisados os autoanticorpos (R-NMDA, R-GABA, R-AMPA- LGI1, CASPR2 e GAD). Os dados foram analisados para avaliar a criação de um modelo preditivo desta doença.

Resultados. Foram analisadas 245 amostras, 101 do grupo-1 e 144 do grupo-2. Do grupo-1 resultaram positivos 18 casos para R-NMDA, 2 para LGI1 e 2 para GAD. Sete dos 18 pacientes R-NMDA positivo eram crianças e 12 foram do sexo feminino. Distúrbio comportamental, crises epiléticas, distúrbio do movimento e alteração do nível da consciência foram os sintomas prevalentes com sensibilidade >75% em pacientes anti-R-NMDA positivo. Outros sintomas como distúrbio da linguagem, psicose, hipoventilação, alteração do ciclo de vigília/sono e déficit cognitivo, tiveram uma sensibilidade >55%. Achados anormais no EEG tiveram uma alta sensibilidade (99,4%). RM cerebral sugestiva de encefalite foi observada em 7 dos casos positivos para R-NMDA. Achados anormais no LCR foram reportados em 12 pacientes positivos para este receptor (sensibilidade 70,6%). Com 7 desses sintomas obtivemos uma sensibilidade de 70% e especificidade de 81% para a presença de anticorpos anti-R-NMDA (Área ROC 82%). Mas para predizer que um paciente com encefalite subaguda possa ter uma causa autoimune o paciente deveria incluir manifestações clínicas como: distúrbio do movimento, distúrbio comportamental, hipoventilação/disautonomia e alteração do ciclo vigília/sono. Crianças foram mais propensas do que

os adultos com encefalite autoimune a apresentar coréia e EME significativamente ($p < 0,05$). O *extreme-delta-brush*, foi observado apenas nos EEGs das crianças com encefalite autoimune. Cinco (3,5%) dos 144 pacientes com epilepsia apresentaram positividade para algum dos autoanticorpos testados (2 R-NMDA e 3 GAD). Os 5 casos positivos apresentavam esclerose hipocampal.

Conclusões: A frequência de anticorpos positivos foi significativamente maior no grupo-1. Encefalite anti-R-NMDA foi mais frequente, sendo mais prevalente no sexo feminino e em crianças. O repertório de encefalite autoimune em crianças é diferente dos adultos. A presença de um quadro subagudo de alteração comportamental, crise epiléptica, distúrbio do movimento, alteração da consciência, hipoventilação/disautonomia e alteração de ciclo vigília/sono em conjunto foi preditivo para anticorpo positivo no grupo-1. A etiologia autoimune pode estar associada a pelo menos 3,5% das epilepsias estabelecidas com esclerose hipocampal; porém, não está clara a relação de causa-efeito entre a esclerose hipocampal e autoanticorpos.

Palavras-chave. Encefalite, Epilepsia, Doenças Autoimunes, Valor Preditivo dos Testes.

ABSTRACT

Introduction. The clinical spectrum of autoimmune encephalitis and autoimmune epilepsy is not yet fully explored. Screening for these antibodies is expensive and not always available, so we need to have strong criteria to prioritize which patients we will refer to for these autoantibodies.

Objective. To characterize the clinical, electroencephalographic and imaging profile of patients with: confirmed autoimmune encephalitis and autoimmune epilepsy.

Methods. Observational retrospective study from May/2011 - May/2017. Clinical EEG and brain MRI data were collected from 302 patients of all ages and included in two groups: group-1: possible autoimmune encephalitis, and group-2: established epilepsy. Serum samples were collected and autoantibodies (NMDA-R, GABA-R, AMPA-R, LGI1, CASPR2 and GAD) were analyzed. Data were analyzed to evaluate the creation of a predictive model of this disease.

Results. 245 samples were analyzed, 101 from group-1 and 144 from group-2. From group-1 18 cases were positive for NMDA-R, 2 for LGI1 and 2 for GAD. Seven out of 18 NMDA-R positive patients were children and 12 were female. Behavioral disorder, epileptic seizures, movement disorder and altered level of consciousness were the prevalent symptoms with sensitivity >75% in anti-NMDA-R positive patients. Other symptoms such as language disorder, psychosis, hypoventilation, abnormal sleep / wake cycle and cognitive impairment had a sensitivity >55%. Abnormal EEG findings had a high sensitivity (99.4%). Brain MRI suggestive of encephalitis was observed in 7 of the 18 (39%) NMDA-R-positive cases. Abnormal CSF findings were reported in 12 of the 18 (67%) NMDA-R-positive patients (sensitivity 70.6%). With 7 of these symptoms we obtained a sensitivity of 70% and specificity of 81% to think about the probability of having antibodies against R-NMDA (ROC area 82%). But to predict that a patient with subacute encephalitis may have an autoimmune cause, the patient should include clinical manifestations such as: movement disorder, behavioral disorder, hypoventilation / dysautonomia, and wake/sleep cycle disorder. Children were more likely than adults with autoimmune encephalitis to have significantly chorea and status

epilepticus ($p < 0.05$). Extreme-delta-brush was observed only in the EEG of children with autoimmune encephalitis. Five (3.5%) out of 144 epilepsy patients were positive for the autoantibodies tested (2 for NMDA-R and 3 for GAD). The 5 positive cases had hippocampal sclerosis.

Conclusions: The frequency of positive antibodies was significantly higher in group-1. Anti-NMDA-R encephalitis was more frequent, being more common in females and children. The repertoire of autoimmune encephalitis in children is different from adults. The presence of a subacute condition of behavioral alteration, epileptic seizures, movement disorder, impairment of consciousness, hypoventilation / dysautonomia, and waking / sleep cycle alterations together was predictive for positive antibody in group-1. Autoimmune etiology may be associated with at least 3.5% of established epilepsies with hippocampal sclerosis; however, the cause-effect relationship between hippocampal sclerosis and autoantibodies is still unclear.

Keywords. Encephalitis, Epilepsy, Autoimmune Diseases, Predictive Value of Tests.

RESUMEN

Introducción. El espectro clínico de la encefalitis autoinmune y la epilepsia autoinmune aún no está totalmente explorado. La investigación de estos anticuerpos en nuestro medio es costosa y no siempre está disponible, por lo cual no es posible ofrecer tratamiento precoz adecuado. Por esto, es necesario tener criterios sólidos para priorizar cuales son los pacientes que podremos indicar el estudio de estos anticuerpos.

Objetivo. Caracterizar el perfil clínico, electroencefalográfico y de imagen de pacientes con: encefalitis autoinmune confirmada y epilepsia autoinmune.

Métodos. Estudio observacional, retrospectivo de mayo/2011-mayo/2017. Fueron recolectados informaciones clínicas, EEG y RM cerebral de 302 pacientes de todas las edades e incluidos en 2 grupos: grupo-1: posible encefalitis autoinmune, y grupo-2: epilepsia establecida. Fueron recolectadas muestras de suero y analizados los anticuerpos R-NMDA, R-GABA, R-AMPA, LGI1, CASPR2 y GAD. Los datos fueron analizados para evaluar la creación de un modelo predictivo de estos anticuerpos.

Resultados. Fueron analizados 245 muestras, 101 del grupo-1 y 144 del grupo-2. Del grupo-1 resultaron positivos 18 casos para R-NMDA, 2 para LGI1 y 2 para GAD. 7 de los 18 pacientes R-NMDA positivos eran niños y 12 del género femenino. El trastorno comportamental, crisis epilépticas, trastorno del movimiento y alteración del nivel de conciencia fueron los síntomas prevalentes con sensibilidad >75% en pacientes anti-R-NMDA positivo. Otros síntomas como trastorno del lenguaje, psicosis, hipoventilación, alteración del ciclo vigilia/sueño y déficit cognitivo tuvieron una sensibilidad >55%. Anormalidades en el EEG tuvieron una sensibilidad alta (99,4%). RM cerebral sugestiva de encefalitis fue observada en 7 de los casos R-NMDA positivos. LCR anormal fue observado en 12 casos positivos para este receptor (sensibilidad 70,6%). Con 7 de estos síntomas se obtuvo sensibilidad 70% y especificidad 81% para pensar en la probabilidad de tener esta anticuerpos contra el R-NMDA (Área ROC 82%). Pero para predecir que un paciente con encefalitis subaguda pueda tener una causa autoinmune el paciente debería incluir

manifestaciones clínicas como: trastorno del movimiento, trastorno comportamental, hipoventilación/disautonomía y alteración del ciclo vigilia/sueño. Los niños fueron significativamente mas propensos que los adultos con encefalitis autoinmune a presentar corea y status epilepticus ($p<0,05$). El extreme-delta-brush fue observado solo en los EEG de los niños con encefalitis autoinmune. Cinco (3,5%) de los 144 pacientes con epilepsia fueron positivos para alguno de los auto-anticuerpos testeados (2 R-NMDA y 3 GAD). Esclerosis hipocampal fue observada en los 5 casos positivos.

Conclusiones. La frecuencia de anticuerpos positivos fue significativamente mayor en el grupo-1. Encefalitis anti-R-NMDA fue mas frecuente, y más prevalente en mujeres y niños. El repertorio de encefalitis autoinmune en niños es diferente al de adultos. La presencia de un cuadro subagudo de alteración comportamental, crisis epilépticas, trastorno del movimiento, alteración de la conciencia, hipoventilación/disautonomía y alteración del ciclo vigilia/sueño juntas fue predictiva de anticuerpos positivos en el grupo-1. La etiología autoinmune puede estar asociada a por lo menos 3,5% de las epilepsias establecidas con esclerosis hipocampal; sin embargo, la relación de causa-efecto entre la esclerosis hipocampal y los autoanticorpos no está clara.

Palabras claves. Encefalitis, Epilepsia, Enfermedades Autoinmunes, Valor Predictivo de las Pruebas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Resultados das análises realizadas em um paciente com anti-R-NMDA positivo.....	29
Figura 2. Subdivisão dos pacientes incluídos no estudo.....	43
Figura 3. Técnica TITTERPLANE.....	47
Figura 4. Fluxograma. Resumo da análise estatístico realizada.....	52
Figura 5. Distribuição dos pacientes com encefalite autoimune possível de acordo com a presença do anticorpo.....	58
Figura 6. Curva ROC analisando as variáveis clínicas significativas (>55%) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.....	63
Figura 7. Curva ROC analisando as variáveis clínicas significativas (>55%) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.....	64
Figura 8. Curva ROC analisando as variáveis clínicas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.....	69
Figura 9. Curva ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.....	70
Figura 10. Modelos clínicos preditivos e probabilísticos para encefalite autoimune de acordo a nossa análise para aplicabilidade clínica.....	73
Figura 11. Distribuição dos pacientes com EPILEPSIA de acordo com a presença do anticorpo.....	75
Figura 12. Distribuição dos anticorpos segundo a etiologia.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Histórico da encefalite autoimune até hoje.....	23
Tabela 2. Características clínicas de acordo com a especificidade dos anticorpos antineuronais.....	36
Tabela 3. Critérios diagnósticos para possível encefalite autoimune.....	41
Tabela 4. Critérios de inclusão para epilepsia.....	41
Tabela 5. Protocolo de Pipetagem – Técnica ELISA.....	50
Tabela 6. Dados sócio demográficos dos 245 pacientes incluídos no estudo de acordo com o diagnóstico.	53
Tabela 7. Dados clínicos do grupo de pacientes com encefalite autoimune possível.....	54
Tabela 8. Dados paraclínicos do grupo de pacientes com encefalite autoimune possível.....	55
Tabela 9. Dados clínicos do grupo de pacientes com epilepsia de longa duração.....	56
Tabela 10. Dados paraclínicos do grupo de pacientes com epilepsia.....	57
Tabela 11. Análise dos anticorpos positivos e negativos dos dois grupos de pacientes pelo teste exato de Fisher.....	58
Tabela 12. Dados sócio demográficos dos 22 pacientes com anticorpos positivos.....	59
Tabela 13. Análise do teorema de Bayes para as variáveis clínicas com sensibilidade > 70% dos pacientes com encefalite anti-R-NMDA , n=18 (17,8%).....	60
Tabela 14. Análise do teorema de Bayes para as variáveis clínicas com sensibilidade 55-65% dos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, n=18 (17,8%).....	61
Tabela 15. Análise do teorema de Bayes dos dados paraclínicos nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, n=18 (17,8%).....	62
Tabela 16. Análise das variáveis clínicas significativas (>55%) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.....	63
Tabela 17. Área ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas significativas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.	64
Tabla 18. Relação das variáveis clínicas e paraclínicas com a presença ou ausência do anticorpo contra LGI1 em pacientes com encefalite autoimune possível.....	66

Tabla 19. Relação das variáveis clínicas e paraclínicas com a presença ou ausência do anticorpo contra o GAD em pacientes com encefalite autoimune possível.....	67
Tabela 20. Área ROC analisando as variáveis clínicas significativas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.....	68
Tabela 21. Área ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas (EEG, RM cerebral e LCR) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.....	69
Tabela 22. Análise de todos os anticorpos positivos utilizando o modelo de regressão logística.	70
Tabela 23. Modelo preditivo para prever encefalite autoimune (válido para adultos).....	71
Tabela 24. Modelo preditivo para prever encefalite autoimune (eliminando e riscando uma variável clínica).....	72
Tabela 25. Modelo preditivo para prever encefalite autoimune (eliminando e riscando duas variáveis clínicas).....	72
Tabela 26. Diferenças entre crianças e adultos com encefalite e Ac positivos.....	74
Tabela 27. Caracterização clínica de cada um dos pacientes com epilepsia e anticorpos positivos, n=5 (3,6%).....	77
Tabela 28. Diferenças clínicas de pacientes com epilepsia e anticorpos negativos vs. positivos.....	78
Tabela 29. Diferenças dos paraclínicos de pacientes com epilepsia e anticorpos negativos vs. Positivos.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviaturas

80's: anos 80

90's: anos 90

Ref: referências

Ac anticorpos

Hz: hertz

et al: e colaboradores

pos: positivo

neg: negativo

nm: nanomol

UI/ml: Unidade Internacional por mililitro

CA: câncer

Siglas

EEG: eletroencefalograma

RM: ressonância magnética

R-NMDA: receptor N-Metil-D-Aspartato

R-GABA-A e GABA-B: receptor do ácido γ -aminobutírico tipo A e B

R-AMPA: receptor do ácido α -amino-3-hidroxy-5-metil-4- isoxazolepropionico

LGI1: proteína rica em leucina-inativada por glioma

CASPR2: proteína 2 associada a contactina

GAD: ácido glutâmico descarboxilase

ROC: *receiver operating characteristic* / características operacionais do receptor

EME: estado de mal epiléptico

USA: *United States of America* / Estados Unidos de América

LCR: líquido cefalorraquidiano

CRMP5: Proteína 5 mediadora da resposta à colapsina

RIA: *radioimmunoassay* / *radioimunoensaio*

ILAE: *International League Against Epilepsy* / *Liga Internacional Contra Epilepsia*

EDB: *extreme delta brush* / escova delta extrema

FBDS: *faciobrachial dystonic seizures* / crises distônicas faciobraquiais

DAEs: drogas antiepiléticas

VGKC: *voltage-gated potassium channel* / canal de potássio voltagem dependente

SNC: sistema nervoso central

SNP: sistema nervoso periférico

FLAIR: *Fluid-attenuated inversion recovery* / *Fluid-attenuated inversion recovery*

DM1: diabetes mellitus tipo 1

CBZ: carbamazepina

OXC: oxcarbazepina

SIADH: síndrome de secreção inapropriada do hormônio antidiurético

T-C: tônico-clônico

CEP: comitê de ética em pesquisa

FCM: faculdade de ciências médicas

UNICAMP: Universidade Estadual de Campinas

HC: Hospital das Clínicas

UFPE: Universidade Federal de Pernambuco

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

UFRN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

HOMI: Hospital Pediátrico la Misericordia

ADEM: Encefalomielite disseminada aguda

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

ELISA: enzima ligada a ensaio imunossorvente

IFFT: *Indirect Immunofluorescence Test* / Teste de Imunofluorescência Indireta

TLE-HS: *temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis* / epilepsia do lobo temporal com esclerose hipocampal

FCD: *focal cortical dysplasia* / displasia cortical focal

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – FCM - UNICAMP	100
Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	102
Anexo 3. Questionário de encefalite autoimune (versão em português).....	106
Anexo 4. Questionário de encefalite autoimune (versão em espanhol).....	108
Anexo 5. Questionário de epilepsia autoimune.....	110

SUMÁRIO

1. Introdução.....	22
1.1. Encefalite autoimune.....	22
1.2. Epilepsia autoimune.....	24
1.3. Apresentações típicas dos fenótipos mais comuns.....	26
1.3.1. Anticorpos contra o R-NMDA.....	27
1.3.2. Anticorpos direcionados a proteína LGI1.....	29
1.3.3. Anticorpos contra a proteína CASPR2.....	31
1.3.4. Anticorpos contra o R-AMPA.....	32
1.3.5. Anticorpos contra R-GABA-A e GABA-B.....	33
1.3.6. Anticorpos contra o GAD.....	34
2. Objetivos.....	39
2.1. Objetivo geral.....	39
2.2. Objetivos específicos.....	39
3. Métodos.....	40
3.1. Aspectos éticos.....	40
3.2. Participantes.....	40
3.3. Critérios de inclusão e exclusão.....	41
3.4. Procedimentos.....	42
3.4.1. Aquisição e análise das imagens da RM.....	43
3.4.2. Aquisição e análise do EEG.....	43
3.4.3. Aquisição e análise dos auto-anticorpos (Ac).....	44
3.4.4. Coleta de sangue e LCR.....	44
3.4.5. Teste de auto-anticorpos.....	45
3.4.5.1. Investigação dos anticorpos da superfície neuronal (R-NMDA, R-AMPA, R-GABA, LGI1, CASPR2).....	45
3.4.5.2. Investigação dos autoanticorpos anti-GAD.....	48
3.5. Análise estatística.....	51
4. Resultados.....	53
4.1. Resultados da investigação clínica.....	53
4.2. Resultados Grupo 1 – Encefalite autoimune possível.....	58
4.2.1. Resultados Anticorpos anti-R-NMDA.....	59

4.2.2. Resultados Anticorpos anti-LGI1.....	65
4.2.3. Resultados Anticorpos anti-GAD.....	65
4.2.3. Resultados Anticorpos anti-R-NMDA, anti-LGI1 e anti-GAD.....	68
4.3. Resultados Grupo 2 – Epilepsia estabelecida.....	75
5. Discussão.....	80
5.1. Encefalite autoimune.....	81
5.2. Epilepsia autoimune.....	86
5.3. Considerações finais.....	90
6. Conclusões.....	91
7. Referências.....	92
8. Anexos.....	101

1. INTRODUÇÃO

1.1. Encefalite autoimune

Estritamente, a encefalite é uma entidade patológica que significa inflamação do cérebro, mas isso pode ser verificado clinicamente através da avaliação de marcadores: líquido cefalorraquidiano (LCR), imagem ou eletroencefalograma (EEG) (1). A encefalite aguda é uma doença neurológica debilitante que desenvolve encefalopatia rapidamente progressiva (geralmente em menos de 6 semanas) causada por inflamação do cérebro. A incidência estimada da encefalite aguda nos países desenvolvidos é de cerca de 5-10 por 100.000 habitantes por ano. Essa encefalite afeta pacientes de todas as idades, representa uma carga para pacientes, famílias e sociedades, e pode ter muitas causas possíveis e um diagnóstico diferencial complexo. No entanto, nos últimos anos, um número crescente de encefalites não infecciosas, de curso subagudo, principalmente casos autoimunes foram identificados (2). A tabela 1 descreve a história de como a encefalite autoimune se tornou uma síndrome reconhecida.

A encefalite autoimune é definida como um grupo de doenças inflamatórias caracterizadas por sintomas neuropsiquiátricos proeminentes e associadas a anticorpos contra proteínas de superfície neuronal, canais iônicos ou receptores (3). Um estudo epidemiológico recente do condado de Olmsted – Minnesota, USA, sugeriu que a incidência de encefalite autoimune (0,8 por 100.000) coincide quase com a da encefalite infecciosa (1 por 100.000) e que a incidência de causas autoimunes aumentou ao longo do tempo à medida que mais anticorpos foram identificados (4).

Distúrbios neurológicos paraneoplásicos e encefalite autoimune se destacam por sua associação com uma ampla gama de anticorpos antineuronais circulantes específicos para diferentes subtipos, que são utilizados como biomarcadores. Esses anticorpos permitem que os médicos discriminem pacientes em grupos ou subtipos com diferentes apresentações clínicas e processos fisiopatológicos potencialmente específicos (5). Os avanços na pesquisa de encefalite autoimune levaram à identificação de novas síndromes e biomarcadores que transformaram a abordagem diagnóstica desses distúrbios. Os critérios existentes para encefalite autoimune são

muito dependentes do teste de anticorpos e da resposta à imunoterapia, o que pode atrasar o diagnóstico (1).

Tabela 1. Histórico da encefalite autoimune até hoje.

Ano/Década	Importância	Ref.
1968	A encefalite límbica foi reconhecida como um fenômeno paraneoplásico raro, manifestado por início subagudo de alteração do comportamento e comprometimento da memória, juntamente com crises epiléticas associadas a tumores malignos.	6
80's e 90's	Com o advento da ressonância, anormalidades nas áreas límbicas foram frequentemente reveladas, e o LCR mostrou uma contagem de glóbulos brancos levemente elevada, proteínas elevadas e bandas oligoclonais não emparelhadas. Um grupo de anticorpos geralmente descritos como anticorpos antineuronais ou paraneoplásicos (incluindo anti-Hu, Ma2 / Ta, CRMP5 e anfifisina) foram identificados pela primeira vez. Esses anticorpos são direcionados contra antígenos intracelulares e várias linhas de evidência sugeriram que eles não eram diretamente patogênicos, mas que eram um epifenômeno da resposta imune antitumoral. Houve uma resposta modesta ao tratamento de qualquer tumor, mas não à imunoterapia isolada nesses pacientes.	7,8
1995	Anticorpos semelhantes foram detectados em pacientes que sofrem de neuromiotonia e encefalite límbica (síndrome de Morvan) e, posteriormente, apenas na encefalite límbica. O primeiro ensaio de radioimunoensaio (RIA) usado inicialmente se pensava que fosse identificar anticorpos que se ligassem a VGKC; chamada encefalite de anticorpo anti-VGKC. Tentativas para confirmar o objetivo do anticorpo e simplificar os testes de diagnóstico inicialmente não tiveram êxito.	9,10
2005, 2007	Dalmau e seus colegas identificaram quatro pacientes que tinham uma encefalite diferente associada a um teratoma ovariano. Posteriormente, eles foram capazes de identificar anticorpos patogênicos que se ligavam à subunidade NR1 do receptor N-metil-D-aspartato (R-NMDA). Foi demonstrado que esses anticorpos se ligam ao hipocampo de ratos e interagem diretamente com um canal de superfície celular. Experimentos subsequentes <i>in vitro</i> demonstraram que os anticorpos podem cruzar R-NMDA que levam à sua remoção da superfície celular e à ruptura de inúmeras redes corticais e subcorticais. Portanto, eles são amplamente aceitos como diretamente patogênicos.	11-13
2008	Uma série de casos de mais de 100 casos de encefalite associada a anticorpos R-NMDA foi publicada, confirmando que a condição não era tão rara. Atualmente é a forma mais reconhecida de encefalite autoimune. Curiosamente, nesta série, 60% dos pacientes não tiveram tumor detectado e trabalhos adicionais identificaram a encefalite por vírus do herpes simplex como um gatilho para o desenvolvimento de encefalite R-NMDA em vários pacientes.	14
2010	Dois importantes grupos de pesquisa demonstraram independentemente que, para a maioria dos pacientes com encefalite anti-VGKC, os anticorpos não se ligam à própria proteína VGKC, mas sim à proteína 1 rica em leucina, inativada pelo glioma (LGI1), que está ligado ao VGKC em um complexo multiprotéico <i>in vivo</i> e que também estava presente no RIA. Uma proporção menor de pacientes com anticorpos anti-VGKC positivos possui anticorpos direcionados contra proteínas semelhantes à proteína 2 (CASPR2), uma proteína da superfície celular também ligada ao complexo VGKC. Depois, foram introduzidos ensaios comerciais relativamente simples de células nos quais o antígeno de interesse é expresso na superfície celular de linhas celulares e pode ser usado como substrato para identificar autoanticorpos com alto grau de sensibilidade e especificidade.	15-17

Última década	A identificação de encefalite por anticorpos anti-VGKC e R-NMDA havia estabelecido a denominada encefalite mediada por anticorpos que responde à imunoterapia como uma entidade nosológica e gerou um interesse crescente na identificação de outros autoanticorpos, reformulando a maneira como os médicos lidavam com a suspeita clínica. Desde então, foram identificados autoanticorpos adicionais direcionados contra novas proteínas neuronais da superfície celular, com vários novos autoantígenos identificados a cada ano.	18
---------------	--	----

Legenda: R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; CASPR2, proteína 2 associada a contactina; LCR, líquido cefalorraquidiano; CRMP5, Proteína 5 mediadora da resposta à colapsina; RIA, radioimunoensaio.

1.2. Epilepsia autoimune

A epilepsia é um distúrbio do cérebro caracterizado por uma predisposição duradoura para gerar crises epiléticas e por consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais dessa condição. A definição de epilepsia requer a ocorrência de pelo menos uma crise epilética. (19).

Até alguns anos atrás, um terço ou mais de todas as epilepsias eram consideradas de causa desconhecida, representando talvez a área mais fértil para pesquisas (20). A última década viu um aumento dramático no descobrimento de anticorpos neurais e gliais, incluindo seus antígenos alvos. A identificação molecular desses alvos antigênicos fornece informação sobre os mecanismos patogênicos subjacentes a muitos distúrbios neurológicos autoimunes, incluindo a epilepsia. Assim, a encefalite autoimune pode explicar parte das epilepsias de causa até agora desconhecida (21).

A epilepsia autoimune é definida como um transtorno cerebral com crises epiléticas recorrentes, direta ou indiretamente causado pelos elementos do sistema imune adaptativo (anticorpos, células T). É importante saber que as crises não são necessariamente o único sintoma e a imunoterapia pode melhorar a condição. A fisiopatologia dessa doença parece estar relacionado com:

- Anticorpos, que modificam a transmissão sináptica em um modo epilético, por isso é também denominada encefalite mediada por anticorpos.
- As células T citotóxicas, que destroem as células do cérebro, resultando em cicatrizes epileptogênicas (22).

Como o diagnóstico de encefalite autoimune está aumentando rapidamente, principalmente com a encefalite anti-R-NMDA e anti-LGI1, e devido às implicações do tratamento com imunoterapias direcionadas, esse subgrupo etiológico mereceu uma categoria específica e foi incluída nas etiologias da epilepsia no ano 2017 pelo grupo de comissão e classificação e terminologia da epilepsia liderada pela liga internacional contra epilepsia (*International League Against Epilepsy - ILAE*), e definida como aquela epilepsia que resulta diretamente de um distúrbio imunológico no qual as crises epiléticas são um sintoma central da doença (23), mas nós consideramos que esta definição é muito vaga, porque pode incluir, por exemplo, as epilepsias associadas a lúpus, entre outras doenças de causa imunomediadas.

A fisiopatologia das epilepsias autoimunes, definidas por anticorpos, incluindo seus aspectos relacionados à epilepsia, foi estudada por experimentos *in vitro* e *in vivo*. Os resultados sugerem que os anticorpos contra antígenos de superfície contribuem diretamente para os processos da doença (21). Alguns autores, consideram que estas epilepsias parecem estar frequentemente presentes como parte da encefalite límbica, definida pela presença de confusão, distúrbios da memória anterógrados e alterações do humor, além das crises (5, 21).

O teste de autoanticorpos foi incorporado à neurologia prática e à epilepsia porque muitos testes demonstraram ser confiáveis e específicos para tipos fenomenológicos distintos. A principal técnica para a demonstração de anticorpos (contra o R-NMDAR, LGI1, CASPR2, R-GABA) e outros antígenos de superfície é a incubação do soro diluído ou do LCR do paciente com células do rim embrionário humano (HEK) transfectadas com os antígenos de interesse. A ligação potencial de anticorpos é então visualizada com um anticorpo "secundário" contra IgG humana carregando um fluorocromo ou outros produtos químicos, permitindo a detecção de uma mancha na superfície das células HEK sob o microscópio (21).

Apesar do fato de a maioria dos estudos ter investigado anticorpos neuronais em pacientes com epilepsias recém-diagnosticadas, há evidências de que é improvável que seja um epifenômeno de crises epiléticas refratárias de longa data (24). É por isso que abordamos essas duas doenças, encefalite autoimune e epilepsia autoimune, juntas, uma vez que as características de suporte clínico e diagnóstico são semelhantes em ambas para cada tipo de anticorpo.

1.3. Apresentações típicas dos fenótipos mais comuns

Na maioria dos casos de encefalite autoimune, a apresentação clínica, os achados da ressonância magnética (RM) cerebral, e a avaliação do líquido cefalorraquidiano (LCR) se assemelham aos da causa viral (3). Muitas das diferentes síndromes mediadas por anticorpos têm características clínicas diferentes, mas elas podem estar apenas em uma proporção de pacientes, seja em um estágio muito inicial da doença, ou alternativamente, em um estágio tardio, quando idealmente a terapia já deveria ter começado (18). Aproximadamente 60% dos pacientes com encefalite autoimune apresentam febre prodrômica de baixo grau, mal-estar geral ou cefaléia (3).

As pistas clínicas que ajudam a identificar pacientes com epilepsia autoimune incluem início subagudo (evoluindo de dias a semanas), frequência inusual alta de crises epiléticas, multifocalidade ou variabilidade das crises, resistência às DAEs, histórico pessoal ou familiar de autoimunidade, histórico de neoplasia recente ou passada, comprometimento cognitivo de rápida evolução, sintomas neuropsiquiátricos, evidência de envolvimento multinível do sistema nervoso central (SNC) ou distúrbio do movimento de início recente, sugerem, mas não são necessários, para o diagnóstico. A detecção de autoanticorpos neurais específicos no soro ou no LCR pode ajudar a estabelecer o diagnóstico e orientar o manejo. Outros auxílios paraclínicos úteis incluem a presença de sinais de inflamação na ressonância magnética (RM) ou tomografia por emissão de pósitrons por fluorodeoxiglicose (FDG-PET), além de evidências de neuroinflamação no LCR (25).

Alguns pacientes podem ter fenótipos típicos da epilepsia autoimune (por exemplo, um início agudo e inexplicável de epilepsia com características neuropsiquiátricas associadas; contagem celular elevada ou síntese intratecal de IgG demonstrada por estudos no LCR; ou lesões cerebrais inflamatórias de acordo com neuroimagem ou histopatologia) na ausência de um autoanticorpo conhecido, apesar de testes extensivos. Esses pacientes podem se beneficiar da imunoterapia. Na ausência de um biomarcador confiável, é difícil obter informações sistemáticas e gerais sobre as doenças desses pacientes. Pode-se esperar que a detecção de novos anticorpos ou outros marcadores de encefalite diminua o número de pacientes nesse grupo (21).

A tabela 2 resume as principais características clínicas de acordo com o tipo de anticorpo analisado neste estudo. Mas colocamos ênfase especial nos anticorpos que foram observados em nossa série.

1.3.1. Anticorpos contra o receptor glutamatérgico N-Metil-D-Aspartato (R-NMDA).

O anti-R-NMDA é a causa mais comum de encefalite autoimune (18). Os anticorpos (Ac) contra o receptor NMDA estão associados a uma síndrome encefalítica aguda descrita pela primeira vez em mulheres jovens com teratomas ovarianos (25). O fenótipo clínico reconhecido foi posteriormente estendido para incluir homens e mulheres, casos sem tumores, crianças e uma ampla gama de características psiquiátricas e neurológicas (18). Essa síndrome tem um curso estereotipado, com sintomas prodrômicos virais geralmente seguidos por sintomas psiquiátricos e distúrbios cognitivos. Numa fase posterior, há uma diminuição na capacidade de responder, agitação, catatonia, disautonomia e distúrbios do movimento (26) (Tabela 2). As crises epiléticas, presentes em mais de três quartos dos pacientes, são geralmente observadas desde o estágio inicial e podem ser focais ou generalizadas (27). Foi relatado que a semiologia das crises e o início ictal podem começar nas regiões temporais, extratemporais ou multifocais, refletindo a disfunção cortical mais difusa presente na síndrome associada ao Ac-R-NMDA em comparação aos casos de encefalite límbica clássica (28).

Dados clínicos e de EEG sugerem uma origem no lobo temporal na maioria das crises epiléticas. Esses pacientes são caracterizados principalmente por consciência alterada e automatismos orofaciais ou manuais. No entanto, algumas se originam nas regiões frontocentrais, levando a manifestações motoras predominantes, como crises tônicas ou clônicas. Foi relatado que o estado de mal epilético (EME) ocorre em 6% a 40% dos pacientes (5, 27, 29). Aproximadamente um terço das mulheres acima de 18 anos com esse distúrbio tem teratoma, mas a probabilidade de encontrar um tumor varia de acordo com idade, sexo e etnia. Aproximadamente 5% dos homens têm tumores testiculares de células germinativas, e teratomas ovarianos são mais comuns em afro-americanas (25, 26).

A apresentação clínica da encefalite anti-R-NMDA varia de acordo com a idade e o sexo. Pacientes do sexo masculino e crianças costumam ter crises como seu único sintoma inicial (5). Por exemplo, em crianças menores de 12 anos, as crises representam o primeiro sintoma neurológico em 72% dos casos, correspondendo em mais da metade dos casos a crises focais (30). Por outro lado, as mulheres com um distúrbio convulsivo isolado inicial desenvolverão sintomas adicionais (distúrbios psiquiátricos, confusão e movimentos anormais) mais rapidamente do que os homens (31).

A monitorização por EEG pode ser útil no diagnóstico de encefalite anti-R-NMDA, dada a sua alta sensibilidade (96%). Apenas uma minoria de pacientes (4%) tem um EEG normal. Mais importante, foi recentemente demonstrado que as primeiras gravações de EEG têm um valor preditivo para o resultado clínico: a presença de um ritmo posterior normal no início se correlaciona com um resultado favorável (32). Em particular, foi observado um padrão de EEG chamado *Extreme Delta Brush* (EDB) em pacientes com encefalite anti-R-NMDA (33). EDB é definido como uma atividade rápida na faixa beta sobreposta à atividade delta contínua (Figura 1). Esse padrão deve aumentar a consideração da encefalite anti-R-NMDA, mas não é patognomônica, pois é descrita em associação com outras etiologias em adultos críticos (34).

Recentemente, dois novos padrões de EEG também foram descritos em associação com a encefalite anti-R-NMDA, atividade beta excessiva na faixa de 14-20 Hz e atividade delta generalizada, este último definido pela presença de atividade delta difusa, síncrona e rítmica (5). Um estudo prospectivo recente mostrou que mais de 80% de uma coorte que apresentou crises epilépticas agudas teve sua última crise dentro de 6 meses após o início da doença, e que o controle das crises foi alcançado dentro dos primeiros 2 anos em todos os casos (29). Em contraste com a consistência do quadro clínico, os achados da RM são menos previsíveis; apenas 55% dos pacientes apresentaram aumento do sinal FLAIR ou T2 em uma ou várias regiões do cérebro, sem correlação significativa com os sintomas dos pacientes (3) – Figura 1.

A imunoterapia precoce está associada a melhores resultados em pacientes com anti-R-NMDA, assim como a terapia de segunda linha se as terapias de primeira linha falharem (18).

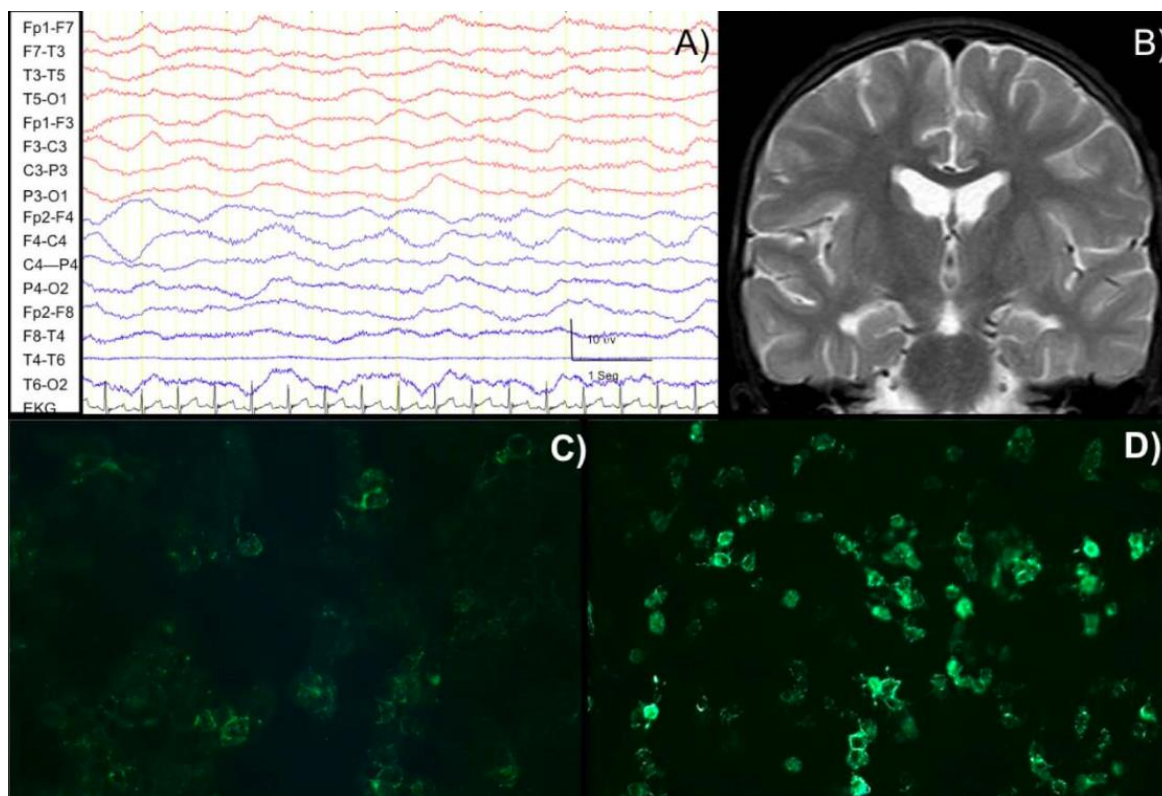


Figura 1. Resultados das análises realizadas em uma criança com anti-R-NMDA positivo. A) EEG com *extreme delta brush*. B) RM cerebral normal, corte coronal, sequência T2. C-D) Imunofluorescência indireta. Substrato: células transfectadas. Reação positiva com células transfectadas que expressam o R-NMDA. C) Reatividade sérica no paciente. D) Reatividade no LCR do paciente. Arquivo de nosso estudo. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

1.3.2. Anticorpos direcionados a proteína inativado por glioma, rico em leucina-1 (*Leucine-rich Glioma-Inactivated 1* - LGI1)

Os anticorpos anti-LGI1 (Ac-LGI1) estão associados a uma síndrome encefalítica que geralmente afeta adultos de meia idade / idosos, 66% dos quais são homens (35). A encefalite por Ac-LGI1 é extremamente rara em crianças (16). (Tabela 2). O processo autoimune afeta principalmente duas regiões do cérebro: o córtex motor e as estruturas do lobo temporal mesial, resultando em dois sintomas neurológicos paroxísticos distintos: crises distônicas faciobraquiais (*faciobrachial dystonic seizures* - FBDS), também chamadas de crises tônicas / distônicas, e crises do lobo temporal mesial (5). A FBDS é considerada um sinal muito sugestivo da encefalite por Ac-LGI1. Esse tipo de crise consiste em contrações tônicas breves (<3

segundos) e frequentes (até várias centenas de vezes por dia) do braço e, muitas vezes, no hemi-face ipsilateral (76%).

A combinação de registros de EEG / eletromiografia permitiu identificar um padrão específico de EEG que consiste em uma onda lenta com duração aproximada de 700 ms, na área fronto-polar, frontal ou central. Essa onda lenta precede imediatamente a contração tônica do braço contralateral. Às vezes, o FBDS é precedido por atenuação generalizada ou padrão eletrodecremental nos registros do EEG de rotina (36). Crises epiléticas do lobo temporal também podem ocorrer em 66% a 89% dos pacientes (37). Geralmente, consistem em crises curtas e extremamente frequentes do lobo temporal mesial que se manifestam como sintomas vegetativos, alucinações ou medo ictal. Além disso, é possível observar crises com bradicardia e piloereção proeminentes, manifestações peculiares relacionadas ao envolvimento do sistema límbico e da ínsula (38). Dada a semelhança dos sintomas desses pacientes com ataques de ansiedade ou arritmias, o diagnóstico muitas vezes é adiado até o comprometimento cognitivo se desenvolver ou imagens de RM ou análises do LCR sugerem um distúrbio encefalítico (18). As crises com evolução tônico-clônica bilateral geralmente aparecem em estágios mais avançados da doença, em um momento em que o comprometimento cognitivo também está presente (39). Apesar da frequência diária de crises do lobo temporal mesial, a maioria delas se manifesta de forma subclínica e anormalidades interictais podem ser raras (40).

A maioria dos pacientes com encefalite anti-LGI1 desenvolve algum comprometimento cognitivo em algum momento, e isso pode ser grave e no início da doença, o que leva a uma rápida deterioração da função cognitiva. Se não tratada, pode progredir por semanas ou meses para deterioração acentuada em vários domínios cognitivos até uma demência manifesta (18). O FBDS não responde às DAEs. A escolha da DAE em pacientes com encefalite por Ac-LGI1 também é desafiada pelo fato de que algumas DAEs, como carbamazepina e oxcarbazepina, podem exacerbar a hiponatremia (já presente em um subconjunto de pacientes devido a uma síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético concomitante), que deve ser corrigido para evitar agravamento das crises (41). Foi demonstrado que a imunoterapia, particularmente os esteroides, tem efeitos benéficos na FBDS e no comprometimento cognitivo (42). Em contraste, as crises do lobo temporal mesial são geralmente melhor controladas com DAEs (43). Apesar

das dificuldades no tratamento, o resultado da epilepsia em longo prazo de pacientes com encefalite por Ac-LGI1 é bom, 71% estavam livres de crises sem DAEs em um seguimento médio de 4 anos (35).

1.3.3. Anticorpos contra a proteína 2 associada à contactina (*contactin-2 associated protein* – CASPR2)

LGI1 e CASPR2 são os dois alvos antigênicos no complexo do canal de potássio (*voltage-gated potassium channel* - VGKC) que foram bem caracterizados, mas até 54% dos pacientes positivos para anticorpos do complexo do canal de potássio não são positivos para nenhum deles, o que sugere que há pelo menos mais um alvo que ainda não foi identificado (44).

Anticorpos anti-CASPR2 (Ac-CASPR2) são encontrados em pacientes com diferentes síndromes neurológicas autoimunes (Tabela 2). Isso inclui manifestações do sistema nervoso central (SNC), como encefalite autoimune e distúrbios do movimento hipercinético, e sintomas do sistema nervoso periférico (SNP) como hiperexcitabilidade do nervo periférico. Uma combinação de ambos também pode ser observada, como é o caso da síndrome de Morvan (16, 17). Não se sabe o motivo de tais manifestações diversas presentes em associação com o mesmo biomarcador, no entanto, sugere-se que a positividade do Ac-CASPR2 no LCR caracteriza pacientes com encefalite autoimune, enquanto pacientes sem autoanticorpos no LCR podem apenas desenvolver hiperexcitabilidade do nervo periférico ou síndrome de Morvan (45).

As crises epiléticas são observadas principalmente em pacientes com encefalite, consistindo em crises do lobo temporal mesial, às vezes com evolução tônico-clônica bilateral associada a amnésia anterógrada leve ou grave e disfunção do lobo frontal. Foi relatada epilepsia em 71% a 89% de pacientes com encefalite por Ac-CASPR2. Os sintomas de encefalite por CASPR2-Ab incluem ataxia cerebelar em um terço dos pacientes. Embora o início da encefalite seja classicamente agudo, com crises epiléticas e amnésia anterógrada, a doença geralmente segue um curso prolongado ao longo de meses ou anos, com uma flutuação nos sintomas e resposta

parcial à imunoterapia. As crises geralmente são facilmente controladas pelas DAEs, as quais se recomenda manter por um longo período para evitar recorrência. Uma minoria de pacientes desenvolverá epilepsia refratária (46).

1.3.4. Anticorpos contra o receptor glutamatérgico ácido α -amino-3 - hidróxi-5-metil-4-isoxazolepropionico (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid – R-AMPA)

Os receptores AMPA (R-AMPA) mediam a neurotransmissão excitatória mais rápida do cérebro. Anticorpos direcionados para uma ou ambas as subunidades GluR1 e GluR2 dos R-AMPA têm sido associados à encefalite autoimune (37), que pode se apresentar como uma encefalopatia aguda com sintomas e anormalidades na RM cerebral restritas às áreas límbicas ou envolvendo regiões límbicas e extra-límbicas (5, 47, 48) (Tabela 2).

Outros anticorpos antineuronais sobrepostos são ocasionalmente encontrados (0% a 40% de acordo com a série), o que pode influenciar a apresentação e o resultado clínico. No relato de caso inicial, apenas 4 de 10 pacientes tiveram crises epiléticas e 8 tiveram achados de inflamação do lobo temporal na RM cerebral. Sete em cada 10 pacientes haviam posteriormente identificado câncer (câncer de pulmão de células pequenas, timoma e câncer de mama) (37). As crises não são uma característica proeminente da encefalite por Ac-R-AMPA, mas são potencialmente prejudiciais e podem levar a EME prolongado (37). Alguns autores acreditam que o tratamento a longo prazo com DAEs provavelmente não é necessário em pacientes que superam o estágio agudo e apresentam EEG e RM cerebral normais (5).

Os pacientes tendem a responder à imunoterapia e à remoção do tumor quando apropriado, mas recidivas parecem ser comuns e os pacientes podem necessitar de imunossupressão a longo prazo (37).

1.3.5. Anticorpos contra o receptor de ácido γ -aminobutírico tipo A e B (R-GABA-A e GABA-B)

Os anticorpos contra os receptores GABA tipo A e B foram recentemente reconhecidos como causa de epilepsia associada à encefalite límbica. (25).

A encefalite autoimune com anticorpos anti-R-GABA-A (Ac-R-GABA-A) afeta adultos e crianças e consiste em encefalite aguda, com crises focais ou generalizadas na maioria dos pacientes. EME, distúrbios do movimento, diminuição da consciência e problemas cognitivos e comportamentais são frequentes. A RM cerebral pode mostrar hiperintensidades multifocais em T2 e FLAIR, envolvendo estruturas córtico-subcorticais (49, 50). Crianças com Ac-R-GABA-A são mais propensas que os adultos a desenvolver crises (50), mas esses pacientes melhoram após o início da imunoterapia.

Anticorpos direcionados ao receptor do ácido γ -aminobutírico tipo B (Ac-R-GABA-B) são encontrados em um grupo homogêneo de pacientes, todos com início agudo de crises epiléticas, acompanhados de sinais de disfunção límbica (51). As crises podem ser focais ou generalizadas e geralmente são de difícil controle, enquanto o EME é frequente (Tabela 2). A epilepsia, no entanto, parece ter destaque apenas nos estágios iniciais da doença. Cerca da metade dos pacientes relatados, que geralmente eram de meia idade / idosos e fumantes pesados, apresentaram carcinoma de pequenas células, e em alguns casos, câncer de mama. Os casos não paraneoplásicos parecem envolver pacientes mais jovens e tendem a responder melhor à imunoterapia. A maioria dos pacientes com câncer acaba morrendo devido à progressão do tumor (52).

Em um estudo baseado em uma coorte de 22 casos paraneoplásicos, confirmou-se que as crises resistentes a medicamentos são observadas no primeiro estágio da doença (fase de crises isoladas). Estes são seguidos invariavelmente por uma fase encefalítica aberta, com confusão proeminente e status epilético notavelmente comum, sendo este último observado em 81% dos casos (53), e a maioria apresentava evidência na RM de inflamação nos lobos temporais (51). Portanto, pacientes com Ac-R-GABA-B são de interesse significativo para o epileptologista e geralmente apresentam um enigma diagnóstico. De fato, durante a

fase inicial das crises, não há sintomas cognitivos ou comportamentais associados, sugestivos de encefalite límbica. Além disso, a ressonância magnética cerebral e a maioria dos achados do EEG interictal são normais. Portanto, a maioria dos pacientes são diagnosticados com epilepsia “criptogênica” e recebe alta hospitalar. Somente as análises do LCR, que geralmente mostram alterações inflamatórias, podem levar o clínico a suspeitar de epilepsia mediada por anticorpos. Infelizmente, isso geralmente é realizado apenas quando ocorre a síndrome encefalítica. Após esse estágio inicial de epilepsia altamente ativa, a frequência de crises tende a diminuir e os pacientes desenvolvem progressivamente distúrbios cognitivos, incluindo amnésia anterógrada e desorientação (5).

Frequentemente, esses anticorpos também coexistem com os anticorpos anti-GAD e os anticorpos anti-canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCC) (12). Os pacientes com tumor respondem à imunossupressão, e as recaídas são raras (25). A mortalidade relacionada ao câncer foi alta nesta coorte, mas para os pacientes que sobreviveram, as crises foram menos comuns em 1 ano (38%) e ausentes em 2 anos (53).

1.3.6. Anticorpos contra a proteína glutamato descarboxilase (Glutamic Acid Decarboxylase - GAD)

Os anticorpos anti-GAD (Ac-GAD) são encontrados em várias síndromes neurológicas autoimunes, como ataxia cerebelar, encefalite límbica e síndrome da pessoa rígida (SPS) (54). A encefalite Ac-GAD é caracterizada pela proeminência de crises do lobo temporal mesial que geralmente são resistentes às DAEs (55). (Tabela 2). A deterioração da memória de curto prazo, os sintomas disexecutivos e as alterações de humor são as características frequentes que a acompanham. Um estudo relatou que cerca de 15% de todos os pacientes com síndromes neurológicas Ac-GAD são paraneoplásicos, um achado, no entanto, inconsistente com outros relatos que apontam para 5% (56, 57). A maioria dos pacientes com epilepsia relacionada ao Ac-GAD são do sexo feminino, com idade média de 30 anos, embora tenha sido observada uma grande variação da idade de início. Foi encontrado

relacionado a doenças autoimunes não neurológicas coexistentes, como hipotireoidismo e diabetes mellitus (5).

A epilepsia de início no adulto é predominantemente do lobo temporal, frequentemente com altos títulos de GAD65, e dois cenários clínicos foram descritos. No primeiro, um início agudo/subagudo de crises epiléticas do lobo temporal mesial, 57% apresentaram crises epiléticas isoladas (incluindo novo estado epilético refratário, ou NORSE = *new onset refractory status epilepticus*) e 43% apresentaram uma combinação de sintomas sugestivos de encefalite límbica. Houve uma sobreposição substancial nos dois grupos a longo prazo, ambos desenvolveram epilepsia resistente a medicamentos e distúrbio cognitivo, com alterações frequentes na função do lobo frontal. O outro cenário, o curso da doença parecia seguir um padrão mais crônico/progressivo, do que agudo/subagudo, em contraste com outras síndromes de encefalite autoimune, sem evidências clínicas ou de ressonância magnética de inflamação ativa do SNC. Os pacientes podem ter algumas manifestações psiquiátricas, mas apenas raras alterações de personalidade. Aqui, a epilepsia crônica de evolução lenta e não recorrente é mais comum que a epilepsia de início agudo / subagudo. Por esse motivo, e considerando que mais da metade dos casos demonstrou uma RM cerebral sem alterações, além que o subconjunto de pacientes com Ac-GAD com epilepsia isolada do lobo temporal no início do estudo provavelmente não será suficientemente diagnosticado. No entanto, o diagnóstico precoce é de extrema importância, uma vez que a imunoterapia pode ser menos eficaz, se não completamente ineficaz, quando é realizada tardiamente no curso da doença (5, 56, 60).

Na abordagem diagnóstica, deve-se considerar que pacientes neurologicamente assintomáticos com diabetes mellitus tipo 1 (DM1) podem abrigar Ac-GAD (56). É notável que os níveis de anticorpos contra o GAD não estejam associados à gravidade ou duração da epilepsia, embora uma diminuição nos títulos seja comumente observada em pacientes que alcançaram uma boa resposta na redução de crises após o tratamento. Em contraste, o desaparecimento completo do Ac-GAD raramente é encontrado após a imunoterapia (55, 60). O tratamento com imunoterapias de primeira linha (corticosteroides, imunoglobulina intravenosa, ou plasmáfereze) tem, na melhor das hipóteses, apenas efeitos moderados no resultado

das crises epilépticas. Portanto, muitas vezes é necessária terapia imunossupressora mais agressiva e crônica (58, 60).

A apresentação clínica da encefalite associada ao anticorpo GAD65 é diferente da epilepsia anti-VGKC (LGI1 ou CASPR2): a encefalite anti-GAD é mais comum em indivíduos mais jovens, geralmente apresenta mais crises em vez de distúrbios cognitivos ou psiquiátricos, as crises são mais frequentes e com menor probabilidade de responder aos DAEs (60). Foi proposto que os anticorpos GAD se juntassem aos anticorpos VGKC no teste para epilepsia do lobo temporal (TLE) de início recente, particularmente em pacientes mais jovens e oligossintomáticos. Outros estudos descreveram a presença de anticorpos anti-GAD em pacientes com encefalomielite progressiva com rigidez e mioclonia, mioclonia palatal e crises mioclônicas (61, 62, 63).

Tabela 2. Características clínicas de acordo com a especificidade dos anticorpos antineuronais.

Antígeno Refs.	Nº de pacientes analisados	Semiologia das crises	Especificações clínicas	EEG	MRI	Advertências
R-NMDA 27, 29-31, 64, 65	927	Crise do lobo temporal (alteração da consciência, automatismos orofaciais ou manuais). Crises que surgem das regiões frontocentrais (crises tônicas ou clônicas)	Predominam mulheres < 45 anos, metade delas com teratoma ovariano. Curso estereotipado. Os sintomas iniciais diferem de acordo com a idade e o gênero. Às vezes, as crises são de difícil distinção com os transtornos do movimento	Três estágios do EEG: Atividade beta em excesso, Extreme Delta Brush, Atividade delta generalizada	Anormalidades inespecíficas em cerca de 20% dos casos. Lesões desmielinizantes em um subconjunto de pacientes	Descargas epilépticas subclínicas são observadas em 20% dos pacientes. + ≤50% dos adultos têm teratoma
LGI1 16, 35, 36, 38, 42, 43, 66	138	2 tipos de crises: 1) -Crises distônicas facio-braquiais (FBDS). 2) -Crise do lobo temporal (pode ocorrer piloereção ictal e bradicardia com necessidade de implante de marcapasso)	2/3 são homens. Idade média: 64 anos. Resposta ao tratamento precoce com esteróides e imunossupressão. Apresentação diferente em crianças	Achados do EEG associados ao FBDS: - Onda lenta nas áreas frontais centrais que precedem o FBDS. - Padrão eletrodecremental. - Crises do lobo temporal: Crises subclínicas frequentes	Hiperintensidades no lobo temporal mesial uni ou bilateral	Efeitos adversos cutâneos às DAEs são comuns. CBZ e OXC podem exacerbar a hiponatremia induzida por SIADH. <10-20% podem estar associados com CA de células pequenas, timoma
CASPR2 16, 17, 45, 46, 67	147	Epilepsia do lobo temporal é frequente	Curso prolongado, predominantemente em homens. Idade média de 64	Não foram observados padrões específicos	Geralmente normal	O tratamento a longo prazo com DAEs é

			anos. Manifestações relatadas no SNC e SNP (Síndrome de Morvan).			frequentemen-te necessário. 0-40% tem timoma associado
R-AMPA 37, 48, 68-70	42	Poucos relatórios detalhados. Epilepsia do lobo temporal	Idade média 62 anos, 64% mulheres, apresentação variável. Epilepsia não é a manifestação predominante. Frequentemente, diferentes autoanticorpos sobrepostos.	Descargas epiléticas no lobo temporal. Não foram observados padrões específicos	Hiperintensidade no lobo temporal, às vezes se estendendo para áreas extra-límbicas	Tendência à recaída. 50-70% se relacionam com tumor do timo, CA do pulmão
R-GABA-A 49, 50	23	Crises focais e generalizadas.	Adultos e crianças afetadas, distribuição por gênero. Crises são observadas na maioria dos pacientes.	Descargas epileptiformes periódicas uni ou bilaterais.	Lesões multifocais	EME frequente. 70% podem estar relacionados com CA de células pequenas de pulmão
R-GABA-B 51-53, 71	68	Focal (29%) Focal a bilateral T-C (24%) Generalizado (47%)	Dois grupos principais: casos paraneoplásicos (geralmente homens, fumantes, com câncer de pulmão associado, a idade média é de 67 anos), e casos não paraneoplásicos (pacientes mais jovens, a idade média é de 39 anos)	A maioria dos EEG interictais são normais nos estágios iniciais	Frequentem ente normal na fase inicial Durante o estágio encefalítico, 77% são anormais (hipersinal temporal mesial)	Raramente encontrado em pacientes com encefalopatia epilética criptogênica
GAD 54-58	96	Crises do lobo temporal	Predominante- mente mulheres. Idade média de 30 anos. Encefalopatia crônica com epilepsia do lobo temporal, geralmente refratária às DAEs e tratamento imunossupressor	Descargas interictais ou ictais no lobo temporal	Hiperintensidade hipocampal em T2 na metade dos casos	O tratamento a longo prazo com DAEs é frequentemente necessário. <5% podem estar relacionadas com tumor

Legenda: Refs, Referencias; R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; CASPR2, proteína 2 associada; R-AMPA, receptor glutamatérgico ácido α -amino-3 - hidroxí-5-metil-4-isoxazolepropionico; R-GABA-A e B, receptor de ácido γ -aminobutírico tipo A e B, GAD, ácido glutâmico descarboxilase; EEG, eletroencefalograma; FDBS, crises distônicas faciobraquiais; T-C, tônico-clônicas; CA, câncer; SNC, sistema nervoso central; SNP, sistema nervoso periférico; DAEs, drogas antiepiléticas; SIADH, secreção inadequada de hormônio antidiurético; EME, estado de mal epilético; CBZ, carbamazepina; OXC, oxcarbazepina.

O espectro clínico dessas doenças ainda não está totalmente explorado, sobretudo sua relação com epilepsias de longa duração.

Fazer a pesquisa destes anticorpos em nosso meio custa caro e nem sempre é disponível pelo qual não é possível fornecer tratamento precoce adequado, aumentando o risco de sequelas e morbi-mortalidade; portanto, é preciso ter critérios sólidos para priorizar quais são os pacientes para os quais indicaremos a pesquisa destes autoanticorpos.

Existe assim a necessidade de definir dados clínicos ou um sistema de diagnóstico preditivo que possam ajudar no reconhecimento e tratamento precoce destes distúrbios, o que pode levar à imunoterapia rápida e a um melhor prognóstico.

Consideramos que é importante comparar ambas patologias: encefalite autoimune possível e epilepsia estabelecida, incluindo os pacientes com epilepsia como grupo doença controle, mesmo sabendo que a frequência dos anticorpos seria muito menor que no grupo das encefalites. Além disso, é uma boa forma para validar o teste comercial que utilizamos. Também, era nosso interesse conhecer a real frequência de positividade destes anticorpos e sua relação com diferentes etiologias em pacientes com epilepsias estabelecidas, já que a maioria dos estudos investigou anticorpos em epilepsias recém diagnosticadas.

Neste contexto, nós realizamos um estudo observacional voltado para melhorar a caracterização destas síndromes associadas a anticorpos antineuronais, com o objetivo de buscar parâmetros para seu reconhecimento precoce.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral

Caracterizar o perfil clínico, eletroencefalográfico e de imagem de pacientes com: encefalite autoimune confirmada e epilepsia autoimune.

Objetivos específicos

1. Analisar as características clínicas entre os diferentes autoanticorpos encontrados em nossa série de pacientes com encefalite autoimune possível, e pacientes com epilepsia estabelecida.
2. Identificar dados clínicos e laboratoriais que possam predizer a presença de autoanticorpos em pacientes com encefalite e pacientes com epilepsia em nosso meio.

3. MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

Todos os pacientes ou representantes dos pacientes incluídos no estudo foram devidamente informados a respeito da natureza do trabalho, dos procedimentos que seriam realizados e de seus riscos. Todos assinaram termos de consentimento livre e esclarecido (CEP/FCM 225/2011) aprovado pelo Comitê de Ética da UNICAMP, antes da realização da coleta das amostras. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética médica da UNICAMP para a coleta de amostras biológicas, estudos de neuroimagem e informação clínica relacionada (Anexo 1, 2).

3.2. Participantes

Estudo observacional, transversal (grupo 1) e retrospectivo (grupo 2), que inclui os períodos de maio de 2011 a maio de 2017, nos quais foram coletados dados clínicos, de eletroencefalograma (EEG) e de neuroimagem (RM cerebral) de 302 pacientes de todas as idades e incluídos em dois grupos:

- I. Grupo 1 – Encefalite autoimune possível. Pacientes com critério diagnóstico de provável encefalite autoimune (2) que ingressaram no Hospital das Clínicas – HC-UNICAMP, e de alguns outros hospitais do Brasil (Hospital de Caridade e Hospital Regional de São José, Florianópolis; Hospital Universitário de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis; HUOL/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Hospital das clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), Hospital da PUC, Campinas) e fora do Brasil (Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia - HOMI, Bogotá – Colômbia, San Vicente Fundación, Medellín – Colômbia).
- II. Grupo 2 – Epilepsia. A seleção dos pacientes com epilepsia diagnosticados de acordo com os critérios da ILAE (20) e acompanhados no Serviço de Epilepsia de adultos do HC-UNICAMP. Por ser um centro de referência, quase todos os pacientes cursavam com epilepsia de longa duração (ou seja, com seguimento clínico a mais de 2 anos).

3.3. Critérios de inclusão e exclusão.

Os critérios de inclusão para o grupo 1 são definidos na tabela 3, de acordo com a definição de encefalite autoimune possível proposta por Graus et al. (2).

Tabela 3. Critérios diagnósticos para encefalite autoimune possível
<p>O diagnóstico pode se realizar quando os três dos seguintes critérios foram cumpridos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Início subagudo (rápida progressão de menos de 3 meses) de déficit de memória de trabalho (perda de memória a curto prazo), alteração do estado mental*, ou sintomas psiquiátricos 2. Ao menos um dos seguintes: <ol style="list-style-type: none"> a. Novos achados focais do SNC b. Crise não explicadas por um transtorno previamente conhecido c. Pleocitose no líquido (contagem de glóbulos brancos de mais de cinco células por mm³) d. RM com achados sugestivos de encefalite** 3. Exclusão razoável de causas alternativas <p><small>* Estado mental alterado definido como nível de consciência diminuído ou alterado, letargia ou mudança de personalidade. ** Sinal hiperintenso na ressonância magnética cerebral em sequências T2 e FLAIR restritas a um ou ambos lobos mediais (encefalite límbica), ou em áreas multifocais envolvendo substância cinzenta, substância branca ou ambas compatíveis com inflamação. Legenda: SNC, sistema nervoso central; RM, ressonância magnética.</small></p>

Os critérios de inclusão para o grupo 2 são definidos na tabela 4, segundo a definição de epilepsia conforme os critérios da ILAE já definidos previamente.

Tabela 4. Critérios de inclusão para epilepsia
<p>Pacientes consecutivos no ambulatório de epilepsia de adultos que tenham investigação diagnóstica incluindo EEG, RM cerebral e seguimento clínico de mais de 2 anos, com diagnóstico de epilepsia estabelecida.</p> <p>Legenda: EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética.</p>

Como critérios de exclusão para o grupo 1 foram considerados:

1. Encefalopatias agudas (por exemplo, as infecciosas, como as encefalites herpéticas, bem como outras encefalites virais, toxico-metabólicas, etc.).
2. Encefalomielite disseminada aguda (ADEM)
3. Síndrome de Morvan
4. Síndrome de Susac
5. Encefalite de Rasmussen

Como critérios de exclusão para ambos grupos foram considerados*:

1. Contraindicação para RM (portadores de marca-passo ou próteses metálicas, cliques metálicos intracranianos, gravidez e claustrofóbicos severos).
2. Pacientes com dados clínicos ou paraclínicos insuficientes para o estudo.
3. Envio de sangue, e não de soro ou plasma, para a análise dos anticorpos.

*Observação: Pacientes com epilepsia com diagnóstico recente não foram incluídos no grupo 2. A realização do exame de LCR não foi um critério de exclusão.

Assim, foram incluídos 245 pacientes e excluídos 57 pacientes (33 por não cumprir os critérios de encefalite autoimune possível, 21 por não ter informação suficiente para a análise e 3 por envio de sangue e não soro necessário para o estudo dos autoanticorpos). No total foram selecionados 101 pacientes para o grupo 1, e 144 para o grupo 2

3.4. Procedimentos

A coleta e análise de dados realizada no presente estudo foi dividida em três etapas, conforme ilustrado na Figura 2.

Os dados clínicos (idade de início da doença, pródromo, temporalidade do início dos sintomas e sinais, sintomas, tipo de crises epiléticas, medicação, estudos laboratoriais relevantes, comorbidades diversas, antecedentes pessoais e familiares) e sociodemográficos (idade, gênero) foram coletados dos prontuários médicos dos pacientes pela pesquisadora ou colaboradores interessados nos resultados, seguindo o questionário realizado para cada grupo (Anexos 3-5).

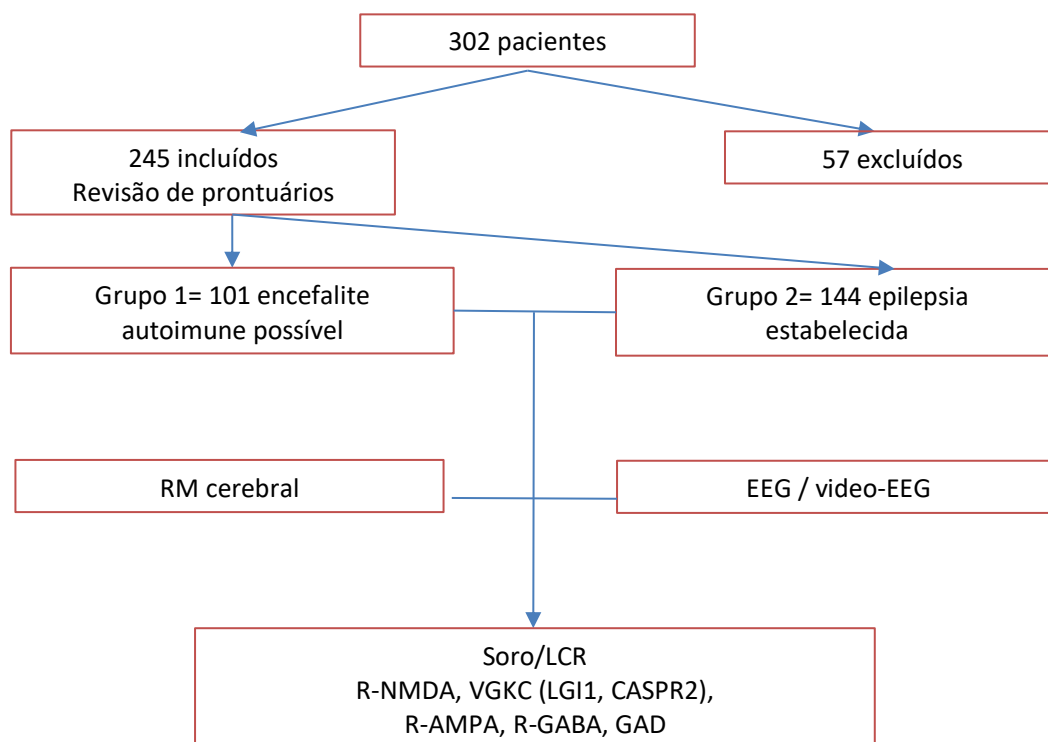


Figura 2. Fluxograma. Subdivisão dos pacientes incluídos no estudo. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; CASPR2, proteína 2 associada; R-AMPA, receptor glutamatérgico ácido α -amino-3 - hidroxil-5-metil-4-isoxazolepropionico; R-GABA-A e B, receptor de ácido γ -aminobutírico tipo A e B, GAD, ácido glutâmico descarboxilase; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

3.4.1. Aquisição e análise das imagens da Ressonância Magnética (RM)

- Grupo 1. Foram realizadas imagens estruturais de RM cerebral em um equipamento de 1,5 ou 3 teslas incluindo sequências em T1, T2 e FLAIR, nos planos coronal e axial.
- Grupo 2. Foram realizadas imagens estruturais de RM em equipamento de 3 teslas, segundo o protocolo para epilepsia, volumétricas em T1 e T2, e imagens FLAIR nos planos axial e coronal ou volumétrica.

3.4.2. Aquisição e análise do Eletroencefalograma (EEG)

- Grupo 1. EEG seriados em ambos grupos foi realizado usando o sistema internacional 10-20 seguindo as recomendações da federação internacional de neurofisiologia clínica com duração média de 30 minutos, interpretados por eletroencefalografistas do serviço.

- Grupo 2. Além do EEG foram realizados exames de vídeo-EEG a critério clínico para diagnóstico diferencial ou para eventual indicação cirúrgica.

3.4.3. Aquisição e análise dos Autoanticorpos (Ac)

Os pacientes selecionados foram submetidos a coleta do material solicitado (soro, e em alguns casos se obteve o consentimento para a coleta do LCR) para os autoanticorpos ser analisados. A realização da análise dos anticorpos no LCR não foi considerada como critério de exclusão.

Anticorpos contra o receptor de glutamato tipo NMDA, AMPA1, AMPA2, receptor GABA B1/B2 os anticorpos contra o complexo VGKC: CASPR2 e LGI1, foram analisados mediante o teste de imunofluorescência indireta (IFFT) de células transfetadas. Os anticorpos intracelulares contra a enzima ácido glutâmico descarboxilase (GAD) foram analisados mediante ao teste de ELISA.

A avaliação dos Ac descritos mediante o método IFFT de células transfetadas foram analisadas por dois observadores independentes e classificada em uma escala visual de 0-3, assim: 0= negativo (não união de Ac a células transfetadas); 1= positivo leve (união baixa mas específica); 3= positivo forte (união forte a todas as células transfetadas). Para evitar reportar resultados de baixa especificidade se estabeleceu o valor de GAD-ELISA > 100 UI/ml.

3.4.4. Coleta de sangue e LCR

A coleta de sangue foi realizada por um profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento em cada hospital. As amostras foram imediatamente colocadas em tubos EDTA no gelo e transportadas até o laboratório de microbiologia de cada hospital para a separação do soro. O soro sobrenadante foi pipetado, aliquotado em tubos eppendorf de 1,5ml e congelado em temperatura de -10°. No dia da incubação dos anticorpos, as amostras foram descongeladas no banho maria a temperatura 36°. Amostras sobrantes e duplicadas foram preservadas e mantidas no freezer a temperatura -80°C para estudos futuros.

As análises das amostras coletadas foram realizadas no Laboratório de Biologia ou no Laboratório de Genética da UNICAMP.

3.4.5. Teste de autoanticorpos

3.4.5.1. Investigação dos anticorpos da superfície neuronal (R-NMDA, R-AMPA, R-GABA, LGI1, CASPR2)

Estes foram feitos pelo teste de imunofluorescência indireta em células HEK293 transfectadas com genes do receptor de glutamato tipos NMDA, AMPA 1 e AMPA 2, receptor de GABA tipo B1/B2, proteínas do complexo VGKC (LGI1 e CASPR2) – do laboratório Euroimmun AG, Alemanha como será explicado:

- **Preparação e estabilidade de reagentes:**

- Slides: Estavam prontos para uso. Se abriu a bolsa protetora apenas quando os slides tenham atingido temperatura ambiente (+ 18°C até + 25°C, a água condensada pode danificar o substrato). Em seguida, nós marcamos com uma caneta cada um dos slides. Os biochips não podiam ser tocados.
- Anticorpo secundário (ITCF) marcado com fluoresceína: Estava pronto para uso, mas devia ser misturado bem. O conjugado era sensível à luz, pelo qual devia ser protegido da luz solar.
- Controles positivos e negativos: Estavam prontos para uso. Antes de utilizar pela primeira vez, deviam ser misturados bem.
- PBS-Tween: 1 embalagem de "Sal para PBS" foi dissolvido em 1 litro de água destilada e misturada com 2 ml de Tween 20 (agitou-se durante 20 min até ser homogênea). O PBS-Tween preparada se armazenou a +2 ° C a +8 ° C, durante 1 semana no máximo.
- Incorporação de meio: Estava pronto para uso.
- Vidros de cobertura: Estava pronto para uso.
- Bandeja de reagente: Estava pronta para uso.

- **Preparação e estabilidade das amostras**

Amostras: se usou soro em todos os pacientes, e em alguns casos se obteve o consentimento para a coleta do LCR dos pacientes selecionados.

Estabilidade: As amostras a serem investigadas se armazenaram durante 14 dias a uma temperatura entre +2 ° C e 8 ° C ou a – 80 ° C quando o tempo foi maior. As amostras diluídas foram incubadas no mesmo dia.

Se realizou uma diluição da amostra 1:100, que se conseguiu diluindo 1:10 as amostras a serem investigadas com PBS-Tween e posteriormente, se colocou 100 µl

de PBS-Tween nos tubos, misturando bem com 11,1 mL do soro do paciente. O LCR não precisava ser diluído.

A técnica foi desenvolvida pelo TITERPLANE EUROIMMUN® a fim de padronizar análises imunológicas. As amostras ou anticorpos marcados foram aplicados nos campos de reação de uma bandeja de reagente. Os slides biochip foram colocados nos recessos da bandeja de reagente, onde todos Biochips da lâmina entraram em contato com os fluidos, e as reações individuais iniciaram simultaneamente.

- **Realização do teste** (Figura 3)

1. Pipetado: foi aplicado um volume definido (30µl da amostra diluída para cada campo de reação do tabuleiro de reagente, evitando bolhas de ar.
2. Incubação: nos certificamos de que cada amostra entraria em contato com o seu biochip e que as amostras individuais não entrariam em contato umas com as outras. Depois, se incubou por 30 minutos a temperatura ambiente (+ 18 ° C a + 25 ° C).
3. Lavado: os slides biochip foram lavados com PBS-Tween e mergulhou-se imediatamente em uma cuvette contendo PBS-Tween durante pelo menos 5 min.
4. Pipetado: com uma pipeta de passo, foram aplicadas 25µl de globulina anti-humana marcada com fluoresceína para cada campo de reação em uma bandeja de reagente limpa. O conjugado deve ser bem misturado antes de remover a alíquota necessária.
5. Incubação: foi removida uma lâmina biochip. Secou-se com uma toalha de papel evitando tocar os biochips e imediatamente foi colocado o slide em recessos da bandeja de reagente. As áreas entre os campos de reação não foram secas, só as bordas. Foi verificado o contato correto dos biochips com os líquidos. Depois, foi protegido os slides da luz solar direta, e incubado durante 30 minutos à temperatura ambiente (+18°C a +25°C).
6. Lavado: Em uma tina com novo PBS-Tween foram lavados os slides biochip e colocados na tina cheia com o novo PBS-Tween por 5 min. Depois, foi agitado com um agitador rotativo.
7. Incorporação: foi colocado 10µl glicerol para fixar a lamínulas de vidro ao slide com os Biochips.
8. Avaliação: a leitura de cada biochip e amostra foi realizada com um microscópio de fluorescência. Foi utilizado objetiva de 20x e 40x para a leitura.

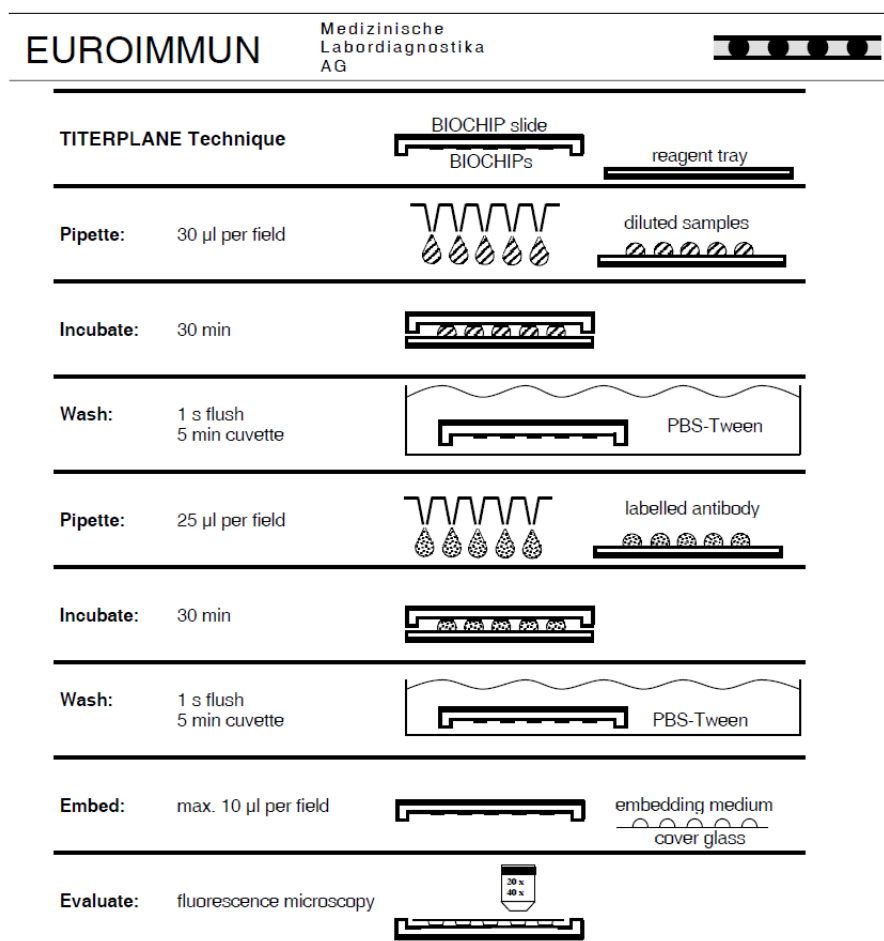


Figura 3. Técnica TITTERPLANE (Euroimmun)

- **Avaliação do teste:**

Padrão de fluorescência (reação positiva): Se uma amostra do paciente continha anticorpos contra o substrato relevante, o padrão de fluorescência devia corresponder aproximadamente com a do controle positivo. Se o controle positivo não mostrou nenhum padrão de fluorescência específica ou o controle negativo mostrou uma clara fluorescência específica, os resultados não foram usados e o teste foi repetido.

- **Avaliação qualitativa:**

Se em uma fluorescência específica foi observada a diluição recomendada, o resultado foi interpretado como "positivo". Se não se observou fluorescência específica o resultado foi interpretado como "negativo".

3.4.5.2. Investigação dos anticorpos anti-GAD

Foi feita através da técnica de ELISA do Laboratório Euroimmun® que fornece um teste in vitro quantitativo para autoanticorpos contra o ácido glutâmico descarboxilase (GAD) em soro ou plasma com EDTA como será explicado:

- **Princípios do teste:**

O kit contém tiras de microplaca, cada uma com 8 poços de reagentes destacáveis cobertos com GAD. No primeiro passo da reação, as amostras dos pacientes são incubadas nos poços. Se as amostras são positivas, anticorpos específicos serão ligados ao GAD. Anticorpos ligados são capazes de atuar divalentemente e formar uma ponte entre GAD nos reagentes dos poços e GAD marcado com biotina, a qual é adicionada em uma segunda incubação. Para detectar a ligação da biotina, uma terceira incubação é feita usando enzima marcada com avidin (conjugado enzimático) catalisando a cor da reação. A intensidade de cor formada é proporcional a concentração de anticorpos anti- GAD.

- **Preparação e estabilidade dos reagentes**

Todos os reagentes ficaram em temperatura ambiente (+18°C a +25°C) por volta de 30 minutos antes do uso. Os reagentes foram armazenados entre +2°C e +8°C e protegidos de contaminação.

- Poços com antígenos: Estavam prontos para uso. Foi aberta a embalagem protetora da microplaca na região acima do fecho de selagem.
- Calibradores e controles: Estavam prontos para uso. Os reagentes foram misturados cuidadosamente antes do uso.
- GAD: liofilizado. Se reconstituiu o conteúdo de um frasco com 5,5 ml de tampão GAD.
- Conjugado enzimático: é 20 x concentrado. Foi removida a quantidade requerida usando uma pipeta limpa e se diluiu 1:20 com o tampão do conjugado (1 parte do reagente + 19 partes do tampão do conjugado). Se misturou antes do uso.
- Tampão de lavagem: é concentrado 10x. Foi removida a quantidade requerida do frasco utilizando uma pipeta limpa e diluiu-se com água destilada (1 parte de reagente para nove partes de água destilada).
- Solução substrato/cromógeno: Estava pronta para uso. Se fechou o frasco imediatamente após o uso, pois o conteúdo é sensível à luz. A solução substrato/cromógeno deve ser clara ao uso.

- Solução de parada: Estava pronta para uso.

- **Realização do teste:**

1. Incubação das amostras: Foi transferido 25 μ L dos calibradores, controles positivo ou negativo ou amostras dos pacientes diluídas nos poços individuais da microplaca de acordo com o protocolo de pipetagem (Tabela 5). Foi incubado por 60 minutos em temperatura ambiente (+18°C a +25°C) com um agitador de placas em 500 rpm.
2. Lavagem: Se esvaziaram os poços e se lavaram subsequentemente 3 vezes utilizando 300 μ l de solução de trabalho para cada lavagem. Foi deixado o tampão de lavagem em cada poço por 30 a 60 segundos por ciclo de lavagem, e depois se esvaziaram os poços. Após a lavagem, foi retirado cuidadosamente todo o líquido da microplaca batendo-a em papel absorvente com as aberturas para baixo para remover todo o tampão de lavagem residual.
3. Incubação do conjugado: Foi pipetado 100 μ L do conjugado enzimático (GAD marcado com biotina) em cada um dos poços da microplaca. Incubados por 60 minutos em temperatura ambiente (+18°C a 25°C) com um agitador de placas em 500 rpm.
4. Lavagem: Os poços foram esvaziados e depois lavados como descrito acima.
5. Incubação do Substrato: Foi pipetada 100 μ L da solução substrato / cromógeno em cada um dos poços da microplaca e incubada por 20 minutos em temperatura ambiente (+18°C a 25°C) protegendo da luz direta.
6. Parada da reação: Foi pipetada 100 μ L de solução de parada em cada um dos poços da microplaca na mesma ordem e na mesma velocidade que a solução substrato/cromógeno foi introduzida.
7. Medição: A medição fotométrica da intensidade de cor foi realizada em um comprimento de onda de 450 nm e em um comprimento de referência de 620 nm a 650 nm dentro de 5 minutos após a adição da solução de parada. Antes de medir, se mexeu levemente a microplaca para assegurar uma distribuição homogênea da solução.

Tabela 5. Protocolo de Pipetagem – Técnica ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C1	P1	P9	P17								
B	C2	P2	P10	P18								
C	C3	P3	P11	P19								
D	C4	P4	P12	P20								
E	C5	P5	P13	P21								
F	C6	P6	P14	P22								
G	neg	P7	P15	P23								
H	pos	P8	P16	P24								

Legenda: C, calibrador; P, paciente; neg, negativo; pos, positivo.

O protocolo de pipetagem para as tiras 1-4 é um exemplo para a análise quantitativa de 23 amostras de pacientes (P1 a P24).

Os calibradores (C1 a C6), o controle positivo (pos.) e negativo (neg.) e as amostras dos pacientes foram incubados cada um em um poço.

Ambos os controles positivo e negativo serviram como controles internos para a confiabilidade do procedimento do teste. Eles foram testados em todas as vezes que se realizou o exame.

• Cálculo dos resultados quantitativos

A curva padrão, a partir da qual pode ser obtida a concentração de anticorpos nas amostras de soro, é obtida através de registro ponto a ponto dos valores de densidade óptica medida calibradores 3-6 (450nm) ou calibradores 1-6 (405 nm) (linear, *y-axis*) contra as unidades correspondentes (logarítmica, *x-axis*).

O resultado pode ser calculado usando um dos seguintes tipos de curvas: utilizar o registro “ponto a ponto” para o cálculo da curva (450 nm), logístico de 4 parâmetros. Concentrações baixas (< 35 UI/ml, calibrador 4) mostra ser lido em 450 nm, e concentrações altas (> 35 UI/ml) mostra serem lidos em 405 nm e em um comprimento de referência de 620 nm a 650 nm.

Se a densidade óptica de uma amostra de soro se encontrar abaixo do valor do calibrador 6 (5 UI/ml), o resultado deve ser dado como “< 5 UI/ml”. Se a densidade óptica de uma amostra de soro se encontrar acima do valor do calibrador 1 (2000UI/ml), o resultado de ser dado como “> 2000UI/ml”.

Sensibilidade e Especificidade Clínica: a sensibilidade do teste ELISA foi de 96% com uma especificidade de 98% comparado com o RIA.

3.5. Análise estatística

Para ambos grupos (grupo 1 e 2), foram usadas estatísticas descritivas para resumir os dados. As variáveis contínuas foram analisadas através do cálculo da média e mediana. A análise univariada das variáveis nominais e do intervalo foram realizadas pelo teste exato de Fisher e, em alguns casos, pelo teste do qui-quadrado.

Para o grupo 1, das encefalites, foi aplicado o teorema de Bayes de cada um dos sinais e sintomas neurológicos para avaliar a sensibilidade e a especificidade. Conforme o resultado acima, um conjunto de sinais e sintomas foi selecionado para estabelecer uma escala de diagnóstico clínico. A validade desta escala foi analisada usando a curva ROC para os grupos de forma separada. O modelo de regressão logística foi utilizado para avaliar a validade do modelo anterior, e depois foi aplicada uma equação anti-logarítmica, o modelo função logit, que permite além de obter estimativas da probabilidade de um evento, identificar os fatores de risco que determinam essas probabilidades, bem como a influência ou peso relativo que eles têm sobre eles. Essas análises não foram realizadas no grupo 2 devido ao baixo número dos resultados obtidos.

Os dados foram analisados no programa estatístico STATA versão 16®. Um fluxograma da análise estatística realizada é detalhado na figura 4.

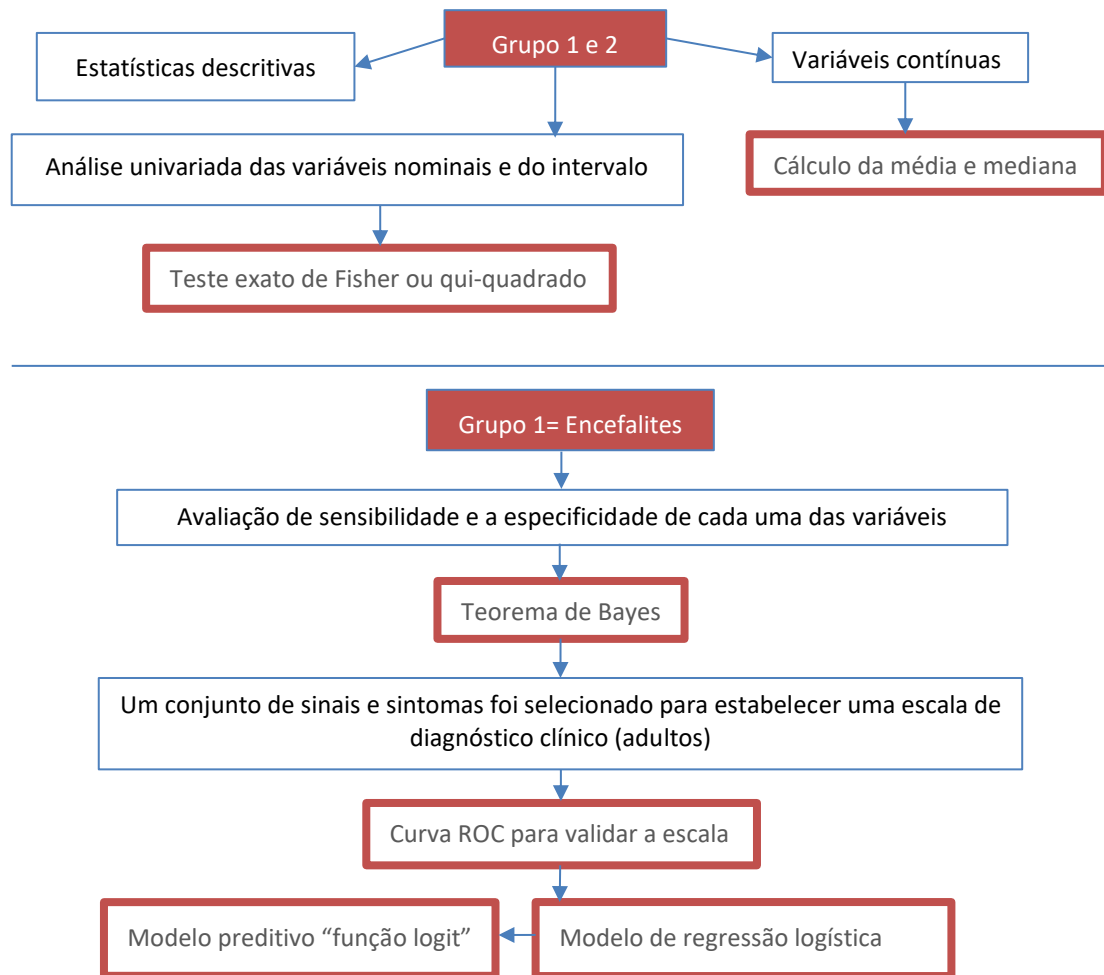


Figura 4. Fluxograma. Resumo da análise estatística realizada.

4. RESULTADOS

4.1. Resultados da investigação clínica

Foram incluídos no estudo 245 pacientes. Conforme descrito nos métodos, os pacientes foram divididos em dois grupos: 101 pacientes com suspeita de encefalite (grupo 1), e 144 pacientes com epilepsia estabelecida (grupo 2); sendo 59 mulheres e 42 homens para o grupo 1, e 85 mulheres e 59 homens para o grupo 2, com média de idade de 39 e 44 anos para cada grupo. A tabela 6 apresenta os dados clínicos e demográficos dos pacientes de acordo com a divisão dos grupos.

Tabela 6. Dados sócio demográficos dos 245 pacientes incluídos no estudo de acordo com o diagnóstico

Grupos	Encefalite autoimune possível n= 101	Epilepsia n= 144
	Média (min-máx), ou n (%)	Média (min-máx), ou n (%)
Idade (anos)	39 (1-82)	44 (18-81)
Gênero		
Feminino	59 (58.42%)	85 (59.02%)
Masculino	42 (41.58%)	59 (40.97%)

A tabela 7 mostra as variáveis clínicas utilizadas para analisar o possível grupo de encefalites autoimunes, o valor total e porcentagem de cada sinal ou sintoma, no qual predominou nesse grupo algumas variáveis como:

- Pródromos (particularmente dor de cabeça e febre).
- Alteração do nível da consciência (que envolve sonolência, obnubilação, estupor, coma).
- Declínio cognitivo (compromisso da memória de trabalho).
- Crises epiléticas.
- Distúrbio do comportamental (agressividade, hiperatividade, comportamentos inadequados que violam padrões e regras sociais apropriados à idade).

Outras manifestações obtiveram uma porcentagem inferior a 50%, como:

- Psicose (desorganização do pensamento, perda do contato com a realidade ou ilusões, alucinações).

- Distúrbio do movimento (entre os mais frequentes estão discinesias, coreia, distonia, mioclonia, opsoclonus/mioclonus).

Outras manifestações clínicas como alteração da linguagem (caracterizada por disartria, linguagem digitalizada, mutismo), hipoventilação, disautonomia, história pessoal ou familiar de doença autoimune, presença ou detecção de câncer ou tumor durante hospitalização, alteração do ciclo de vigília e sono, déficit motor (paresia), alteração do nervo craniano, síndrome cerebelar e neuropatia, foram observadas em menor porcentagem nos pacientes de este grupo.

Tabela 7. Dados clínicos do grupo de pacientes com encefalite autoimune possível.

Sinais ou sintomas	Total n = 101 n (%)
Pródromo	55 (54.45%)
Cefaléia	24 (23.76%)
Tontura	6 (5.94%)
Vômito	18 (17.82%)
Febre	24 (23.76%)
Diarreia	5 (4.95%)
Gripe	4 (3.96%)
Alteração do nível da consciência	54 (53.47%)
Declínio cognitivo	71 (70.30%)
Crises epiléticas	76 (75.25%)
Crises epiléticas focais	36 (35.64%)
Crises epiléticas generalizadas	40 (39.60%)
Estado de mal epilético	23 (22.77%)
Distúrbio do comportamento	74 (73.27%)
Psicose	50 (49.50%)
Distúrbio do movimento	42 (41.58%)
Discinesia/Coréia/distonia	34 (33.66%)
Mioclonia	22 (21.78%)
Opsoclonus/mioclonus	5 (4.95%)
Alteração da linguagem	32 (31.68%)
Hipoventilação/disautonomia	25 (24.75%)
Hipoventilação	17 (16.8%)
Disautonomia	13 (12,8%)
Alteração do ciclo vigília/sono	30 (29.70%)
Alteração de nervo craniano	27 (28.00%)

Déficit motor	16 (15.84%)
Síndrome cerebelar	19 (18.81%)
Neuropatia	6 (5.94%)
Câncer / tumor	9 (8.91%)
História pessoal ou familiar de autoimunidade	11 (10.89%)

Nós observamos que na avaliação dos estudos paraclínicos, os achados anormais no EEG prevaleceram em relação aos achados anormais da ressonância e do líquido. Observamos uma porcentagem maior de atividade epileptiforme, seja focal ou generalizada, neste grupo de pacientes, seguido de atividade lenta focal. O *extreme delta brush* só foi observado em 2 casos. Dentro dos achados anormais da RM cerebral predominou aqueles sugestivos de encefalite (hipersinal em regiões temporais mesiais). Nem todos os pacientes tiveram amostras de LCR emparelhadas com soro, só conseguimos analisar líquido em 71 dos 101 pacientes deste grupo, predominando a pleocitose em mais da metade deles, seguida de hiperproteinorraquia (tabela 8).

Tabela 8. Dados paraclínicos do grupo de pacientes com encefalite autoimune possível.

Paraclínicos	Total, n = 101 n (%)
EEG anormal	79 (78.21%)
Distúrbio da atividade de base	30 (29.70%)
Atividade epileptiforme	37 (36.63%)
<i>Status epilepticus</i>	6 (5.94%)
Atividade lenta focal	41 (40.59%)
<i>Extreme delta brush</i>	2 (1.98%)
Atividade periódica	9 (8.91%)
RM anormal	69 (68.31%)
Sugestiva de encefalite	25 (24.75%)
Esclerose hipocampal	17 (16.83%)
LCR anormal (n=71)	47 (66.19%)
Pleocitose	40 (56.34%)
Hiperproteinorraquia	29 (41.43%)

Legenda: EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

Das variáveis clínicas utilizadas para analisar o grupo de epilepsia estabelecida ou de longa duração predominou a refratariedade medicamentosa em 77% dos casos, seguida do distúrbio comportamental em 64,5%. Outras manifestações como presença de pródromo viral ou psicose tiveram uma frequência menor (20 e 22% cada uma) (tabela 9).

Tabela 9. Dados clínicos do grupo de pacientes com epilepsia de longa duração.

Sinais ou sintomas	Total, n = 144, n (%)
Pródromo viral*	29 (20.13%)
Idade de início das crises > 25 anos	21 (14.58%)
Alergia a DAEs	16 (11.11%)
História pessoal de neuroinfecção	15 (10.41%)
Refratariedade	111 (77.08%)
Estado de mal epilético (EME)	32 (22.22%)
História pessoal de autoimunidade	15 (10.41%)
Crises febris	20 (13.88%)
Câncer ou tumor	21 (14.58%)
Distúrbio do movimento	4 (2.77%)
Declínio cognitivo	52 (36.11%)
Distúrbio do comportamento	93 (64.58%)
Psicose	32 (22.22%)
Alteração do ciclo vigília/sono	28 (19.44%)

*Distúrbio do movimento: foram incluídos a coreia e as discinesia. **Pródromo viral antes do início da primeira crise epilética (rinorreia, dor de garganta, febre baixa). **Legenda:** DAEs, drogas antiepiléticas.

Dos estudos realizados a atividade epileptiforme focal foi mais frequente (108 paciente) seguida de atividade lenta focal, mas não se observou padrões característicos como *extreme delta brush*. A RM cerebral foi negativa em 32% (tabela 10).

Tabela 10. Dados paraclínicos do grupo de pacientes com epilepsia.

Paraclínicos	Total, n = 144 n (%)
EEG anormal	137 (95.13%)
Distúrbio da atividade de base	13 (9.02%)
Atividade epileptiforme focal	108 (75%)
Atividade epileptiforme generalizada	30 (20.83%)
Atividade lenta focal	85 (59.02%)
<i>Status epilepticus</i>	1 (0.69%)
<i>Extreme delta brush</i>	0 (0%)
Padrão periódico	2 (1.38%)
RM negativa	46 (31.94%)
Esclerose hipocampal	81 (56.25%)
Displasia cortical focal	20 (13.88%)
Tumor	5 (3.47%)
Patologia dupla	8 (5.5%)
LCR anormal n=35	10 (28.5%)
Pleocitoce	7 (4.8%)
Bandas oligoclonais presentes sem pleocitose	3 (2.08%)

Legenda: EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

Na tabela 11 observamos a distribuição dos auto-Ac positivos e negativos em cada grupo de encefalite e epilepsia, correspondendo 22 Ac positivos para o grupo de encefalite e 5 para o grupo de epilepsia.

Quando analisamos estes dados como o teste exato de Fisher, conseguimos estabelecer que existe diferença significativa entre os grupos, afastando a hipótese nula e afirmando a dependência das variáveis, e dizendo que os pacientes no grupo 1 são mais propensos a apresentar Ac positivos que os pacientes com epilepsia.

Tabela 11. Análise dos anticorpos positivos e negativos dos dois grupos de pacientes pelo teste exato de Fisher

GRUPO	Ac positivo	Ac Negativo	Total
Grupo 1			
Encefalite autoimune possível	22 (22%)	79 (78%)	101
Grupo 2			
Epilepsia	5 (3,5%)	139 (96,5%)	144
Total	27	218	245

$p < 0.0001$.

Legenda: Ac, anticorpo

4.2. Resultados Grupo 1 – Encefalite autoimune possível

A figura 4 mostra a frequência em porcentagens dos anticorpos que observamos no grupo 1. Dos 101 pacientes deste grupo, 22 pacientes (21,7%) apresentaram positividade para algum dos auto-Ac testados, 18 pacientes foram positivos para o R-NMDA, 2 pacientes para LGI1 e 2 pacientes para o GAD. Não achamos a presença dos outros Ac testados (R-AMPA, R-GABA, CASPR2).

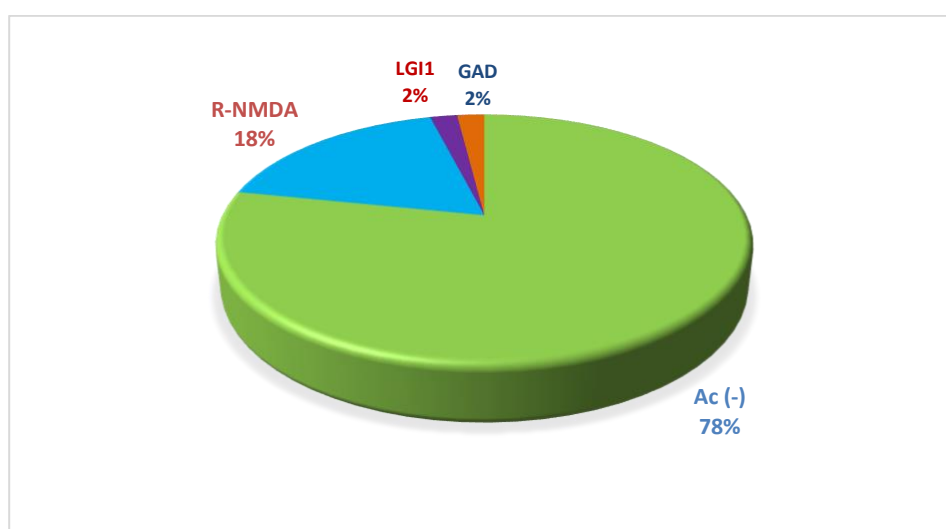


Figura 5. Distribuição dos pacientes com possível encefalite autoimune de acordo com a presença do anticorpo. **Legenda:** Ac, anticorpo.

Dos 18 pacientes positivos para o R-NMDA, 7 pacientes tinham menos de 18 anos, e 12 eram do gênero feminino ($p < 0.05$). As crianças e as mulheres com encefalite foram mais propensas a apresentar o R-NMDA que os adultos e homens. Quinze dos 18 pacientes com R-NMDA tinham menos de 45 anos (total do grupo 1 com < 45 anos = 43) ($p = 0,000$) e 7 deles eram crianças (total do grupo 1 com < 18 anos = 20) com $p = 0,045$. Embora os pacientes positivos para anticorpo anti LGI1 foram adultos (1 deles adulto jovem) e do gênero masculino, esta diferença não foi significativa devido ao número baixo de pacientes com estes anticorpo. Também para o anticorpo contra o GAD, a presença do Ac foi observada em adultos jovens (1 deles criança) e do sexo masculino, sem diferença estatística (tabela 12).

Tabela 12. Dados sócio demográficos dos 22 pacientes com anticorpos positivos.

Grupo etário / Gênero (total)	R-NMDA n= 18/101	LGI1 n=2/101	GAD n= 2/101
< 45 anos n=43	15 (14,8%)	1 (0,9%)	2 (1,9%)
<18 anos n=20	*7 (6,9%)	0 (0%)	1 (0,9%)
Feminino n=59	*12 (11,8%)	0 (0%)	0 (0%)

* $P=0$ ($p < 0.05$).

Legenda: R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; GAD, ácido glutâmico descarboxilase.

4.2.1. Resultados Anticorpos anti-R-NMDA

No grupo de 18 pacientes com anticorpo positivo para o R-NMDA foi realizada a análise com o teorema de Bayes para as variáveis clínicas já descritas na tabela 6, na qual obtiveram sensibilidade superior a 70% foram o distúrbio do comportamento (99,4%), observado em 17 pacientes, obtendo um risco quase 8 vezes maior para ter a presença do anticorpo quando o paciente apresenta esse sintoma, comparado ao paciente que não o possui, com um valor preditivo positivo de 23%, seguido das crises epiléticas (sensibilidade 88,9%), distúrbio do movimento (sensibilidade 77,8%) e alteração do nível de consciência (sensibilidade 77,8%) (tabela 13).

Tabela 13. Análise do teorema de Bayes para as variáveis clínicas com sensibilidade > 70% dos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, n=18 (17,8%).

Manifestação clínica	R-NMDA	n / %	Análise	%	IC _{95%}	
Distúrbio comportamental	Presente	Total	Sensibilidade	99.4%	72.7%	99.9%
Presente	17 (16,8%)	74 (73,2%)	Especificidade	31.3%	21.6%	42.4%
Ausente	1 (0,9%)	27 (26,7%)	OR	7.75	1.23	.
Total	18	101	VPP	23%	14%	34.2%
Crises epilépticas			Sensibilidade	88.9%	65.3%	98.6%
Presente	16 (15,8%)	76 (75,2%)	Especificidade	27.7%	18.4%	38.6%
Ausente	2 (1,9%)	25 (24,7%)	OR	3.07	.72	.
Total	18	101	VPP	21.1%	12.5%	31.9%
Distúrbio do movimento			Sensibilidade	77.8%	52.4%	93.6%
Presente	14 (13,8%)	42 (41,5%)	Especificidade	66.3%	55.1%	76.3%
Ausente	4 (3,9%)	59 (58,4%)	OR	6.88	2.15	21.7
Total	18	101	VPP	33.3%	19.6%	49.5%
Alteração do nível da consciência			Sensibilidade	77.8%	52.4%	93.6%
Presente	14 (13,8%)	54 (53,4%)	Especificidade	51.8%	40.6%	62.9%
Ausente	4 (3,9%)	47 (46,5%)	OR	3.76	1.19	11.8%
Total	18	101	VPP	25.9%	15%	39.7%

Legenda: R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; VPP, valor preditivo positivo.

Outros sintomas como alteração da linguagem, psicose, hipoventilação, alteração do ciclo de vigília/sono e déficit cognitivo, foram observados com sensibilidade superior a 55%, um deles com baixo risco excessivo (inferior a 1) para observar a presença do anticorpo contra o R-NMDA quando o paciente manifesta déficit cognitivo (tabela 14).

Tabela 14. Análise do teorema de Bayes para as variáveis clínicas com sensibilidade 55-65% dos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, n=18 (17,8%).

Manifestação clínica	R-NMDA	n / %	Análise	%	IC_{95%}	
Alteração da linguagem	Presente	Total	Sensibilidade	66.7%	41%	86.7%
Presente	12	32	Especificidade	75.9%	65.3%	84.6%
Ausente	6	69	OR	6.3	2.15	18.4
Total	18	101	VPP	37.5%	21.1%	56.3%
Psicose			Sensibilidade	61.1%	35.7%	82.7%
Presente	11	50	Especificidade	53%	41.7%	64.1%
Ausente	7	51	OR	1.77	.642	4.88
Total	18	101	VPP	22%	11.5%	36%
Hipoventilação / disautonomia			Sensibilidade	55.6%	30.8%	78.5%
Presente	10	25	Especificidade	81.9%	72%	89.5%
Ausente	8	76	OR	5.67	1.96	16.4
Total	18	101	VPP	40%	21.1%	61.3%
Alteração do ciclo sono/vigília			Sensibilidade	55.6%	30.8%	78.5%
Presente	10	30	Especificidade	75.9%	65.3%	84.6%
Ausente	8	71	OR	3.94	1.4	11.1
Total	18	101	VPP	33.3%	17.3%	52.8%
Declínio cognitivo			Sensibilidade	55.6%	55.6%	78.5%
Presente	10	71	Especificidade	26.5%	17.4%	37.3%
Ausente	8	30	OR	.451	.161	1.25
Total	18	101	VPP	14.1%	6.97%	24.4%

Legenda: R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; VPP, valor preditivo positivo.

Apesar de não ter alta sensibilidade, os pródromos estavam presentes em 55 pacientes que compõem o grupo de encefalites, e 13 deles tinham o Ac R-NMDA presente. Mas quando se analisaram os dados com o qui-quadrado este resultado foi significativo, mostrando que pacientes com encefalite e sintomas prodrômicos têm maior probabilidade de apresentar Ac R-NMDA positivo do que aqueles que não apresentam. A presença de tumor também não mostrou alta sensibilidade, nem foi significativo, mas é importante descrever que estava presente em 9 casos do grupo de encefalite, 3 destes apresentavam positividade ao R-NMDA.

Quando analisamos os achados paraclínicos nos pacientes positivos para o R-NMDA, observamos que o EEG anormal tem uma sensibilidade alta (99,4%), observado em 17 pacientes, obtendo um risco excessivo 5 vezes maior para ter a presença do anticorpo quando o paciente apresenta essa alteração, comparado ao paciente que não o possui, com um valor preditivo positivo de quase 23%. Mas a RM cerebral sugestiva de encefalite foi observada em 7 dos 18 pacientes positivos para este receptor, conseguindo uma baixa sensibilidade (38,9%), com um excesso de risco baixo (OR menor a 1) para observar a presença o Ac R-NMDA quando o paciente apresenta essa alteração, comparado com o paciente que não a tem, é dizer que não existe associação entre essa variável paraclínica e a presença do AC, com um VPP 14,6%. O líquido cefalorraquidiano foi achado anormal (bem seja por pleocitose, hiperproteinorraquia ou presença de bandas oligoclonais) em 13 dos 18 pacientes positivos para este Ac, e tendo em conta que foi analisado em 71 dos 101 pacientes que formam o grupo 1, a sensibilidade foi de 70,6% (tabela 15).

Tabela 15. Análise do teorema de Bayes dos dados paraclínicos nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, n=18 (17,8%).

Paraclínico	R-NMDA	n / %	Análise	%	IC _{95%}	
EEG anormal	Presente	Total	Sensibilidade	94.4%	72.7%	99.9%
Presente	17	79	Especificidade	23.7%	14.73%	34.8%
Ausente	1	22	OR	5.28	9.83	.
Total	18	101	VPP	22.7%	13.8%	33.8%
RM sugestiva de encefalite		Total	Sensibilidade	38.9%	17.3%	64.3%
Presente	7	25	Especificidade	47.4%	36.0%	59.1%
Ausente	11	76	OR	0.57	0.21	1.60
Total	18	101	VPP	14.6%	6.1%	27.8%
LCR anormal			Sensibilidade	70.6%	44.0%	89.7%
Presente	13	47	Especificidade	35.2%	22.7%	49.4%
Ausente	5	24	OR	1.30	0.41	4.08
Total	18	71	VPP	25.5%	13.9%	40.3%

Legenda: R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; IC, intervalo de confiança; OR, odds ratio; VPP, valor preditivo positivo; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

Após a análise do teorema da Bayes, tomamos só as variáveis clínicas significativas ou mais sensíveis e as analisamos usando a curva ROC para avaliar as

probabilidades condicionais. Com a presença de 6 desses sintomas obtivemos uma sensibilidade de 83% e especificidade de 62%, mas com 7 desses sintomas a sensibilidade diminuiu para 67%, e a especificidade aumentou para 78%, com 76% de pacientes classificados corretamente (Área ROC 81%) (tabela 16 e figura 6).

Tabela 16. Análise das variáveis clínicas significativas >55% nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.

Ponto de corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
≥ 1	100%	0.00%	17.82%
≥ 2	100%	1.28%	18.81%
≥ 3	100%	2.41%	19.80%
≥ 4	94.44%	18.07%	31.68%
≥ 5	94.44%	42.17%	51.49%
≥ 6	83.33%	62.65%	66.34%
≥ 7	66.67%	78.31%	76.24%
≥ 8	55.56%	96.75%	81.19%
≥ 9	33.33%	98.80%	87.13%
≥ 10	5.56%	100%	83.17%
> 11	0.00%	100%	82.18%

*Área ROC 81.09% – IC: 69%-92%

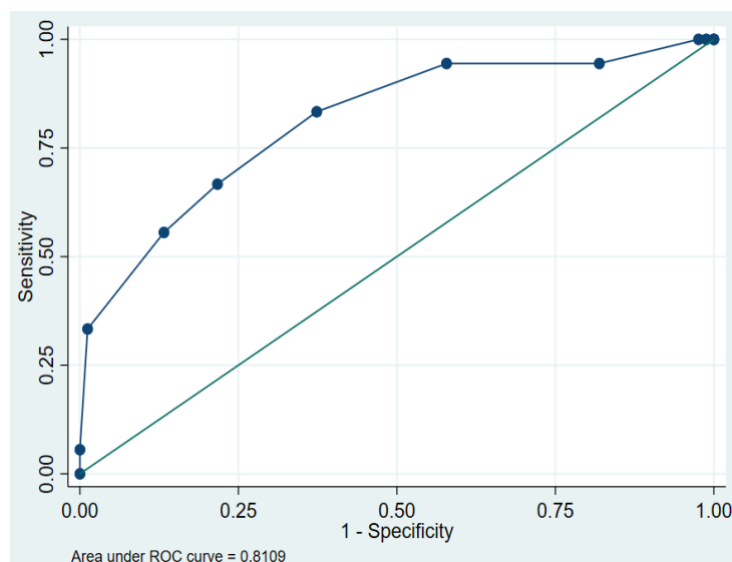


Figura 6. Curva ROC analisando as variáveis clínicas significativas (>55%) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato.

Mas quando realizamos a análise dos 3 estudos paraclínicos avaliados, a curva ROC cai levemente, e isso é explicado porque não temos a totalidade das 101 amostras de LCR, apenas contamos com 71 amostras, portanto, acreditamos que a baixa taxa de

referência das amostras de LCR emparelhados com o soro podem ter afetado a sensibilidade desta subanálise (tabela 17 e figura 7).

Tabela 17. Área ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas significativas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA.

Ponto de corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
≥ 1	100%	0.00%	25.00%
≥ 2	100%	1.96%	26.47%
≥ 3	94.12%	1.96%	25.00%
≥ 4	94.12%	11.76%	32.35%
≥ 5	94.12%	29.41%	45.59%
≥ 6	94.12%	43.14%	55.88%
≥ 7	74.47%	64.71%	67.65%
≥ 8	70.59%	74.51%	73.53%
≥ 9	52.94%	88.24%	79.41%
≥ 10	23.53%	100%	80.88%
≥ 11	5.88%	100%	76.47%
> 12	0.00%	100%	75.00%

* Área ROC 79.30% – IC_{95%}: 65.8%-92.7%

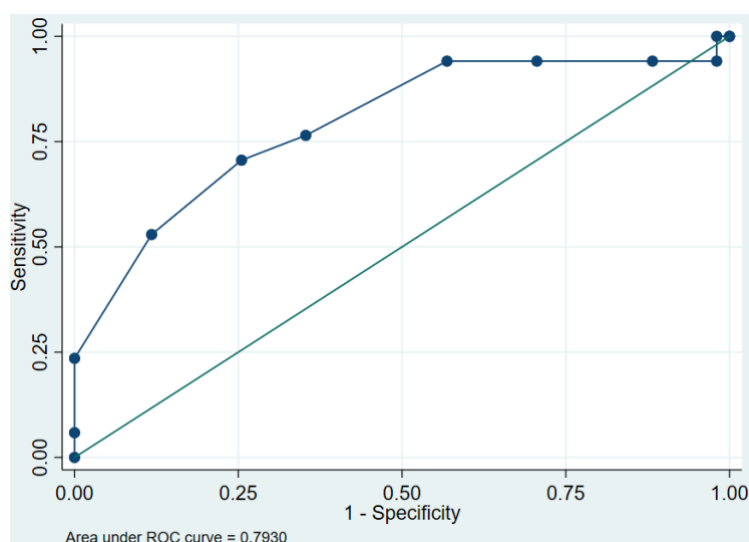


Figura 7. Curva ROC analisando as variáveis paraclínicas significativas (>55%) nos pacientes com encefalite anti-NMDA. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato.

4.2.2. Resultados Anticorpos anti-LGI1

Dois pacientes do grupo 1 foram positivos para a proteína LGI1. A mesma análise do teorema de Bayes não foi possível devido ao baixo número, mas foi observado que distúrbios do movimento, crises epiléticas, declínio cognitivo, anormalidades no EEG e achados de RM sugestivos de encefalites e anormalidades no LCR foram encontradas nos 2 pacientes positivos para esse anticorpo. Alteração do comportamento, psicose e nível alterado de consciência foram relatados em 1 paciente (tabela 18).

4.2.3. Resultados Anticorpos anti-GAD

Da mesma forma, o número de pacientes com anti-GAD positivo foi baixo, apenas 2 casos, portanto, o teorema da Bayes e a curva ROC não foram realizados. Mas foi possível observar que a alteração da consciência, crises epiléticas, déficit cognitivo, alteração do comportamento, psicose e alteração do ciclo vigília/sono foram observadas nos 2 pacientes positivos, além de achados anormais no EEG. Enquanto manifestações como hipoventilação, déficit motor, síndrome cerebelar, alteração de nervo craniano, RM sugestivas de encefalite e achados anormais no LCR foram observadas cada uma em 1 dos casos positivos para esse anticorpo (tabela 19).

Tabela 18. Relação das variáveis clínicas e paraclínicas com a presença ou ausência do anticorpo contra LGI1 em pacientes com encefalite autoimune possível.

Manifestação clínica	LGI1		
Distúrbio do movimento	Presente	Ausente	Total
Presente	2	40	42
Ausente	0	59	59
Total	2	99	101
Crises epiléticas			
Presente	2	74	76
Ausente	0	25	25
Total	2	99	101
Declínio cognitivo			
Presente	2	69	71
Ausente	0	30	30
Total	2	99	101
Alteração do comportamento			
Presente	1	73	74
Ausente	1	26	27
Total	2	99	101
Alteração da consciência			
Presente	1	53	54
Ausente	1	46	47
Total	2	99	101
Psicose			
Presente	1	49	50
Ausente	1	50	51
Total	2	99	101
EEG anormal			
Presente	2	77	79
Ausente	0	26	26
Total	2	99	101
RM sugestiva de encefalite			
Presente	2	23	25
Ausente	0	76	76
Total	2	99	101
LCR anormal			
Presente	2	45	47
Ausente	0	24	24
Total	2	69	71

Legenda: LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

Tabela 19. Relação das variáveis clínicas e paraclínicas com a presença ou ausência do anticorpo contra o GAD em pacientes com encefalite autoimune possível.

Manifestação clínica	GAD		
Crises epiléticas	Presente	Ausente	Total
Presente	2	74	76
Ausente	0	25	25
Total	2	99	101
Declínio cognitivo			
Presente	2	69	71
Ausente	0	30	30
Total	2	99	101
Alteração do comportamento			
Presente	2	72	74
Ausente	0	27	27
Total	2	99	101
Alteração da consciência			
Presente	2	52	54
Ausente	0	47	47
Total	2	99	101
Psicose			
Presente	2	48	50
Ausente	0	51	51
Total	2	99	101
Alteração do ciclo vigília/sono			
Presente	2	28	30
Ausente	0	71	71
Total	2	99	101
Hipoventilação			
Presente	1	16	17
Ausente	1	83	84
Total	2	99	101
Déficit motor			
Presente	1	15	16
Ausente	1	84	85
Total	2	99	101
Síndrome cerebelar			
Presente	1	18	19
Ausente	1	81	82
Total	2	99	101
Paraclínicos			
EEG anormal			
Presente	2	73	75
Ausente	0	26	26
Total	2	99	101

RM sugestiva de encefalite			
Presente	1	47	48
Ausente	1	52	53
Total	2	99	101
LCR anormal			
Presente	1	46	47
Ausente	0	24	24
Total	1	70	71

Legenda: GAD, ácido glutâmico descarboxilada; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

4.2.4. Resultados Anticorpos anti-R-NMDA, anti-LGI1 e anti-GAD

Depois de analisar os resultados de cada anticorpo, realizamos a curva ROC com as variáveis clínicas já descritas que foram significativas (>56%), mas desta vez incluindo todos os pacientes positivos para qualquer um dos anticorpos testados, e observamos que a escala de corte é melhorada e, a partir de 7 é possível obter uma sensibilidade de quase 70% com especificidade de 81%, e uma porcentagem de pacientes corretamente classificados de 78%, com discreto aumento na área ROC de 82%, com intervalo de confiança de 72 a 92% (tabela 20 e figura 8).

Tabela 20. Área ROC analisando as variáveis clínicas significativas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.

Ponto de corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
>=1	100%	0.00%	21.78%
>=2	100%	1.27%	22.77%
>=3	100%	2.53%	23.76%
>=4	95.45%	18.99%	35.64%
>=5	95.45%	44.30%	55.45%
>=6	81.82%	64.56%	68.32%
>=7	68.18%	81.01%	78.22%
>=8	54.55%	88.61%	81.19%
>=9	27.27%	98.73%	83.17%
>=10	4.55%	100%	79.21%
>=11	0.00%	100%	78.22%

* Área ROC 82,08% – IC_{95%}: 71.8%-92.2%

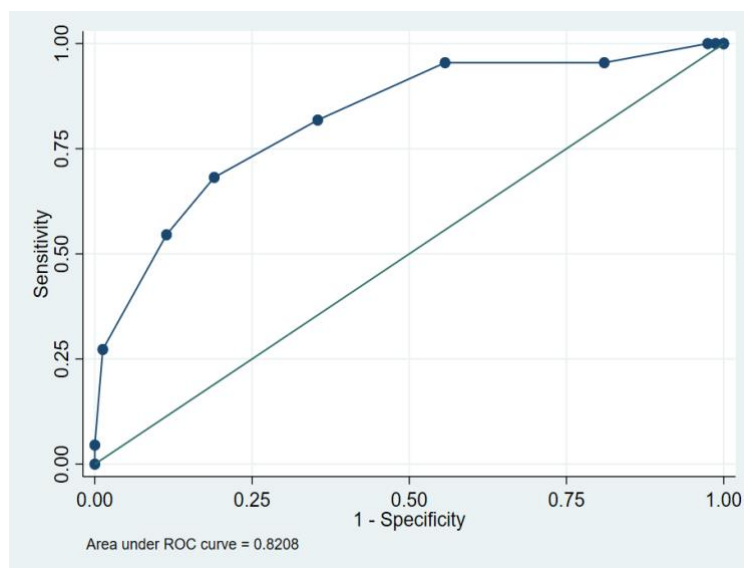


Figura 8. Curva ROC analisando as variáveis clínicas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; GAD, ácido glutâmico descarboxilase.

A porcentagem da área ROC diminuiu ao incluir variáveis paraclínicas na análise, pelo motivo descrito anteriormente (tabela 21 e figura 9).

Tabela 21. Área ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas (EEG, RM cerebral e LCR) nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD.

Ponto de corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
≥ 1	100%	0%	31.82%
≥ 2	100%	2.22%	33.33%
≥ 3	95.24%	6.67%	34.85%
≥ 4	95.24%	126.67%	48.48%
≥ 5	95.24%	37.78%	56.06%
≥ 6	90.48%	57.78%	68.18%
≥ 7	71.43%	73.33%	72.73%
≥ 8	61.90%	82.22%	75.76%
≥ 9	23.81%	95.56%	72.73%
≥ 10	9.52%	100%	71.21%
≥ 11	4.76%	100%	69.70%
≥ 12	0%	100%	68.18%

* Área ROC 79.7% – IC_{95%}: 68.1%-91.3%

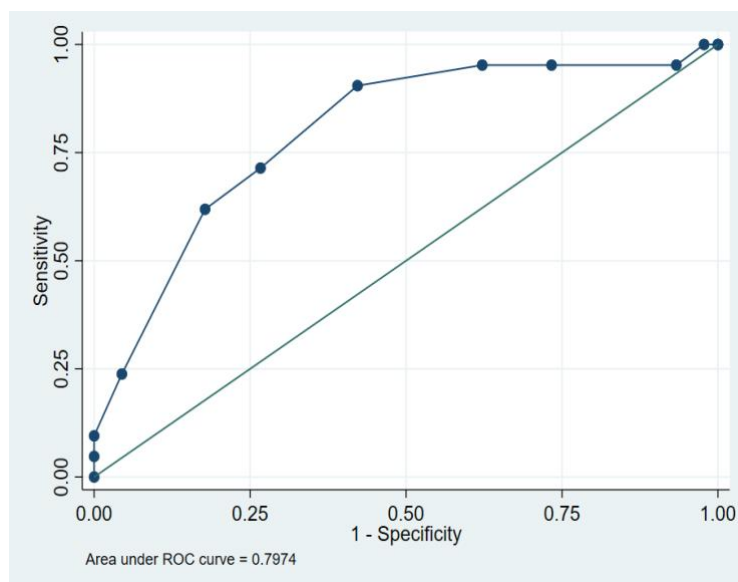


Figura 9. Curva ROC analisando as variáveis clínicas e paraclínicas nos pacientes com encefalite anti-R-NMDA, LGI1 e GAD. **Legenda:** R-NMDA, receptor N-Metil-D-Aspartato; LGI1, proteína rica em leucina-inativada por glioma; GAD, ácido glutâmico descarboxilase.

Após a obtenção desses dados, realizamos o modelo de regressão logística passo a passo com as variáveis expostas, incluindo inicialmente todas elas, e eliminamos aquelas com baixo poder estatístico, ou seja, aquelas com valor de $p > 0,05$ (IC_{95%}), e no final, ficaram aquelas significativas que nos ajudam a prever esta doença, que foram 4 variáveis clínicas: distúrbio do movimento, distúrbio comportamental, hipoventilação/disautonomia e alteração do ciclo vigília/sono (tabela 22).

Tabela 22. Análise de todos os anticorpos positivos utilizando o modelo de regressão logística.

Total	Coef.	Std. Err.	z	P>[z]	IC _{95%}	
Distúrbio do movimento	1.77	0.62	2.85	0.04	0.55	2.99
Distúrbio comportamental	1.95	0.90	2.17	0.030	-0.18	3.72
Hipoventilação/disautonomia	1.40	0.61	2.28	0.022	-0.199	2.61
Alteração do ciclo vigília/sono	1.39	0.61	2.28	0.022	0.19	2.59
-cons	-4.84	1.09	-4.41	0.00	-6.99	-2.69

$p = 0.0000$

Para uma melhor compreensão dos resultados descritos acima, foi realizado um modelo anti-logarítmico (função logit) para obter estimativas da probabilidade da doença, através da influência ou peso relativo de algumas variáveis clínicas na encefalite, como mostra a tabela.

Assim, quando um determinado paciente tiver as 4 variáveis clínicas significativas resultantes do modelo de regressão logística, e aplicando a equação da função logit, podemos finalmente dizer a probabilidade de predizer a encefalite autoimune é de 84,41%, pelo menos, para esses três tipos de autoanticorpos (tabela 23).

Tabela 23. Modelo preditivo para predizer encefalite autoimune (válido para adultos).

D. Movimento	1,773052	1	1,773052
Alt. Comportamental	1,955661	1	1,955661
Hipoventilação	1,407815	1	1,407815
Alt. Vigília/Sono	1,397349	1	1,397349
constante	-4,844278	1	-4,844278
		z	1,689599
		z*-1	-1,689599
		E-z	0,18459353
			0,84417142
		Probabilidade	84,41%

Mas se o paciente tiver só 3 destas variáveis clínicas (por exemplo, se não manifesta distúrbio do movimento), e depois de aplicar a equação da função logit, o percentual de probabilidade para apresentar encefalite autoimune em nossa série diminui a 47,9% (tabela 24).

Tabela 24. Modelo preditivo para prever encefalite autoimune (eliminando e riscando uma variável clínica: distúrbio do movimento).

D. Movimento	1,773052	0	0
Alt. Comportamental	1,955661	1	1,955661
Hipoventilação	1,407815	1	1,407815
Alt. Vigília/Sono	1,397349	1	1,397349
constante	-4,844278	1	-4,844278
		z	-0,083453
		z*-1	0,083453
		E-z	1,08703412
			0,47914885
		Probabilidade	47,91%

E se não tiver 2 destas variáveis clínicas (se por exemplo o paciente só manifesta alteração do comportamento e alteração do ciclo vigília/sono) a probabilidade cai mais (18,3%) (tabela 25). Esse modelo preditivo pode ser aplicado a todos os pacientes adultos, no entanto, não foi possível mostrar resultados estatísticos significativos quando aplicados em crianças.

Tabela 25. Modelo preditivo para prever encefalite autoimune (eliminando e riscando duas variáveis clínicas: distúrbio do movimento e hipoventilação).

D. Movimento	1,773052	1	0
Alt. Comportamental	1,955661	1	1,955661
Hipoventilação	1,407815	1	0
Alt. Vigília/Sono	1,397349	1	1,397349
constante	-4,844278	1	-4,844278
		z	-1,491268
		z*-1	1,491268
		E-z	4,44272532
			0,18373148
		Probabilidade	18,37%

Após a análise dos dados estatísticos obtidos, podemos executar não apenas um, mas três modelos clínicos, que podemos adaptar à prática clínica de acordo com as informações disponíveis, como explicaremos a seguir. Se tivermos apenas 7 ou mais dados clínicos do paciente, aqueles descritos no modelo 1, figura 10, poderíamos usar esse modelo para determinar que 68% são encefalites autoimunes. Se adicionarmos resultados anormais de EEG e CSF a isso, essa sensibilidade aumentará em 71% (modelo 2, figura 10). Mas se tivermos apenas 4 achados clínicos (aqueles descritos no modelo 3, figura 10), teremos uma probabilidade de 84% de que seja essa doença.

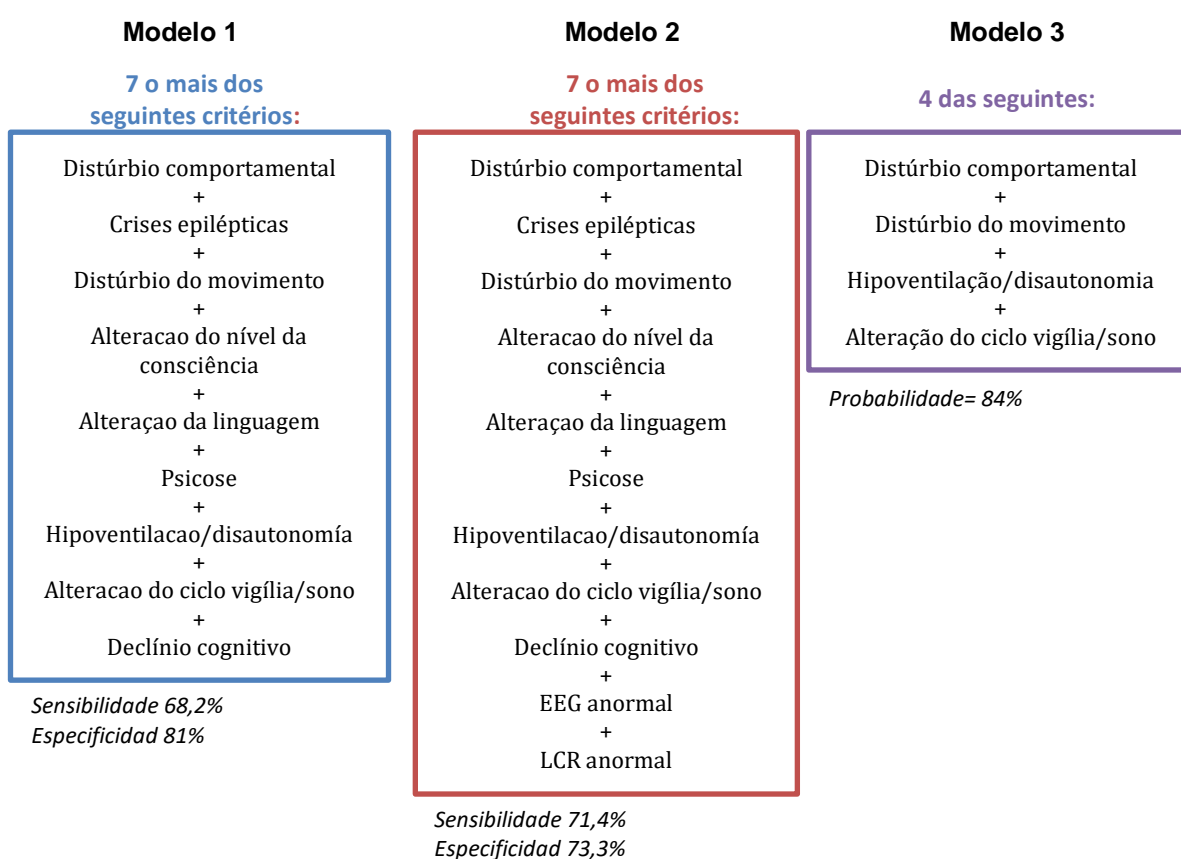


Figura 10. Modelos clínicos preditivos e probabilísticos para encefalite autoimune de acordo a nossa análise para aplicabilidade clínica.

Foi realizado um teste de independência qui-quadrado e, em alguns casos, de Fisher para examinar a relação entre a faixa etária (crianças e adultos) e a presença das variáveis clínicas ou paraclínicas descritas. Assim, determinou-se que as crianças eram mais propensas do que os adultos com encefalite autoimune a apresentar coreia e EME significativamente ($p < 0,05$). Outros achados, como o extreme delta *brush*,

embora não sejam significativos, é importante dizer que foi observado apenas em crianças com encefalite autoimune (tabela 26).

Tabela 26. Diferenças entre crianças e adultos com encefalite e Ac positivos.

Variável (n=total grupo 2)	Crianças Ac+ n=8 (%)	Adultos Ac+ n=14 (%)	Total n=22 (%)	p valor total 22 (p<0,05)
Gênero feminino (n=59)	3 (37,5%)	9 (64,2%)	12 (54,5%)	0,377
Pródromo (n=55)	6 (75,0%)	10 (71,4%)	16 (72,7%)	1
Alteração do nível da consciência (n=54)	7 (87,5%)	10 (71,4,8)	17 (77,2%)	0,613
Declínio cognitivo (n=71)	6 (75,0%)	8 (57,1%)	14 (63,6%)	0,649
Psicose (n=50)	5 (6,8%)	9 (64,2%)	14 (63,6%)	1
Distúrbio do comportamento (=74)	8 (100%)	12 (85,7%)	20 (90,9%)	0,515
Hipoventilação (n=17)	4 (50,0%)	4 (28,5%)	8 (36,3%)	0,386
Disautonomia (n=13)	3 (37,5%)	7 (50,0%)	10 (45,5%)	0,674
Discinesia/coréia (n=34)	7 (87,5%)	5 (37,7%)	12 (54,5%)	0,031
Opsoclonus – mioclonus (n=5)	0 (0,0%)	2 (14,2%)	2 (9,0%)	0,515
Crises epiléticas (n=76)	8 (100%)	12 (85,7%)	20 (90,9%)	0,515
EME (n=23)	6 (75,0%)	2 (14,2%)	8 (36,3%)	0,008
Alteração da linguagem (n=32)	6 (75%)	6 (42,8%)	12 (54,5%)	0,204
Alteração ciclo vigília/sono (n=30)	6 (75%)	7 (50%)	13 (59,0%)	0,380
História pessoal/familiar de autoimunidade (n=11)	0 (0,0%)	2 (14,2%)	2 (9,0%)	0,515
Câncer / tumor (n=9)	0 (0,0%)	3 (21,4%)	3 (13,6%)	0,272
Déficit motor (n=16)	3 (37,5%)	1 (7,14%)	4 (18,1%)	0,116
Síndrome cerebelar (n=19)	3 (37,5%)	3 (21,4%)	6 (27,2%)	0,624
EEG distúrbio lento do traçado (n=30)	1 (12,5%)	6 (42,8%)	7 (31,8%)	0,193
EEG extreme delta brush (n=2)	2 (25%)	0 (0,0%)	2 (9,0%)	0,121
EEG status (n=6)	4 (50%)	2 (14,2%)	6 (27,2%)	0,136
RM cerebral sugestiva de encefalite (n=25)	2 (25%)	5 (35,7%)	7 (31,8%)	1
LCR anormal (n=47)	5 (62,5%)	10 (71,4%)	15 (68,1%)	0,671

Legenda: AC, anticorpo; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

4.3. Resultados Grupo 2 – Epilepsia estabelecida

Dos 144 pacientes que compõem este grupo, 5 pacientes (3,5%) apresentaram positividade para algum dos auto-Ac testados, 2 pacientes (1,4%) foram positivos para o R-NMDA, e 3 pacientes (2,1%) para o GAD (figura 11). Outros auto-Ac testados não foram observados (R-AMPA, R-GABA, LGI1 ou CASPR2).

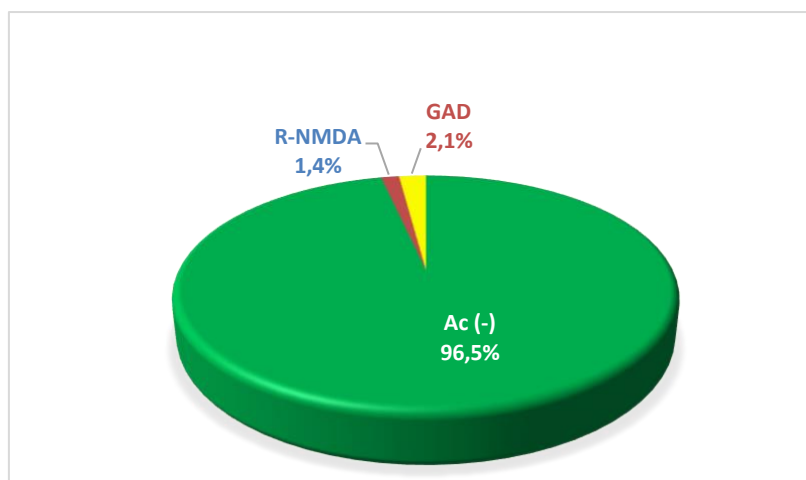


Figura 11. Distribuição dos pacientes com epilepsia de acordo com a presença do anticorpo.
Legenda: AC(-), anticorpo negativo; R-NMDA, receptor del N-Metil-D-Aspartato; GAD, ácido glutâmico descarboxilase.

Desse grupo, a etiologia era conhecida em 105 pacientes, sendo a grande maioria causada por esclerose hipocampal (81 casos), seguida de displasia cortical focal (20 casos), 10 casos de causa genética, como epilepsia mioclônica juvenil, tumor observado em 5 pacientes, e em 29 casos a causa não foi esclarecida. Quando analisamos a distribuição dos anticorpos de acordo com a etiologia da epilepsia, percebemos que todos (ou seja, os 5 casos) correspondiam aos da ressonância que mostrava esclerose hipocampal (figura 12).

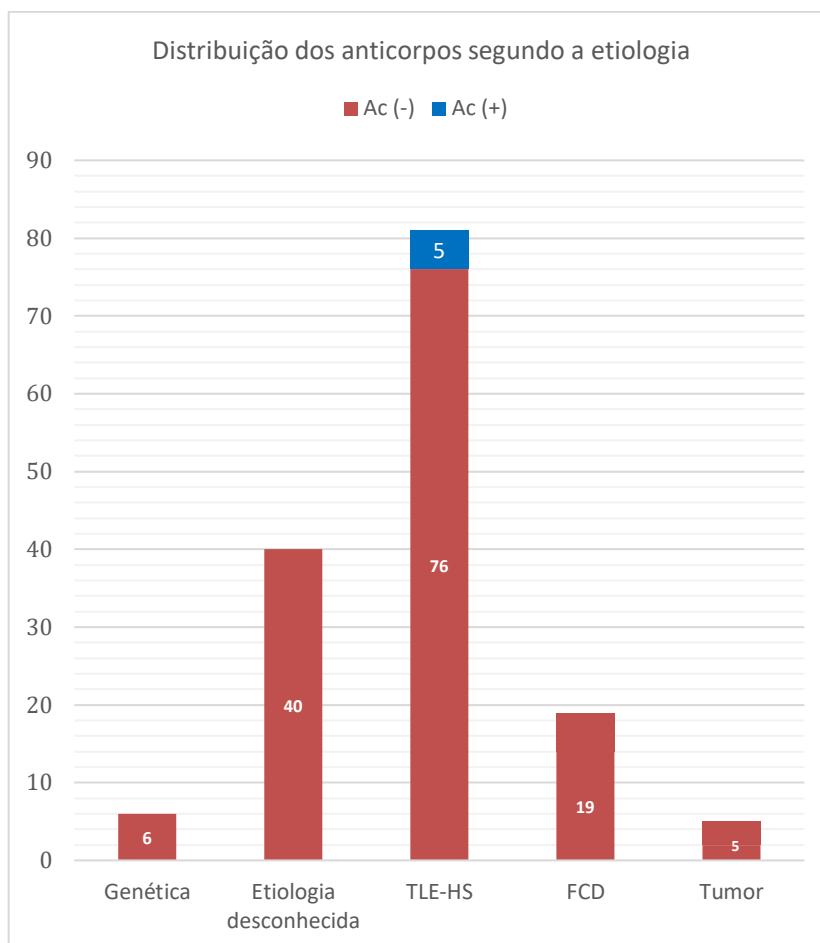


Figura 12. Distribuição dos anticorpos segundo a etiologia. **Legenda:** Ac, anticorpo; TLE-HS, epilepsia do lobo temporal com esclerose hipocampal; FCD, displasia cortical focal.

A tabela 27 resume as características clínicas e paraclínicas mais relevantes de cada um dos 5 pacientes positivos para algum dos autoanticorpos.

Tabela 27. Caracterização clínica de cada um dos pacientes com epilepsia e anticorpos positivos, n=5 (3,6%).

Variável (n)	Paciente 1 GAD +	Paciente 2 GAD +	Paciente 3 GAD +	Paciente 4 R-NMDA +	Paciente 5 R-NMDA +
Gênero	Feminino	Masculino	Feminino	Feminino	Feminino
Idade	24	33	26	37	67
Sinais ou sintomas					
Pródromo	Não	Gripe	Não	Gripe	Febre
Idade de início das crises	17	3	11	7	1
Alergia a DAEs	Não	Não	Não	Não	Sim
História clínica de neuroinfecção	Não	Não	Não	Não	Não
Refratariedade	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Estado de mal epilético	Não	Sim	Não	Sim	Sim
História pessoal de autoimunidade	Não	Não	Não	Não	Não
Crises febris	Não	Não	Não	Sim	Sim
Câncer ou tumor	Não	Não	Não	Não	Não
Distúrbio do movimento	Não	Não	Não	Não	Não
Declínio cognitivo	Não	Não	Sim	Sim	Sim
Psicose	Não	Não	Sim	Não	Não
Alteração do ciclo vigília/sono	Não	Não	Não	Sim	Não
Paraclínicos					
EEG anormal	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Distúrbio da atividade de base	Não	Não	Não	Não	Não
Atividade epileptiforme focal	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Atividade epileptiforme generalizada	Não	Não	Não	Sim	Não
Atividade lenta focal	Não	Não	Não	Sim	Sim
Status epilepticus	Não	Não	Não	Não	Não
Extreme delta <i>brush</i>	Não	Não	Não	Não	Não
Atividade periódica	Não	Não	Não	Não	Não
RM negativa	Não	Não	Não	Não	Não
Esclerose hipocampal	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Displasia cortical focal	Não	Não	Não	Não	Não
Tumor	Não	Não	Não	Não	Não
LCR anormal	-	-	-	-	-

Legenda: n, número; DAEs, drogas antiepilépticas; R-NMDA, receptor del N- Metil-D-Aspartato; GAD, ácido glutâmico descarboxilase; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

Nos 5 pacientes positivos, foi realizado um teste de Fisher para examinar a relação entre a presença de anticorpos com as variáveis clínicas e paraclínicas descritas nas tabelas 28 e 29. Mas não encontramos diferenças significativas.

Variáveis clínicas, como presença de pródromo e história de estado de mal epilético, são mais frequentes quando comparadas com aqueles pacientes com auto-AC negativos, com resultados quase significativos (tabela 28).

Tabela 28. Diferenças clínicas de pacientes com epilepsia e anticorpos negativos vs. positivos.

Variável clínica	Ac (-) n = 139 (96.52%)	Ac (+) n = 5 (3.47%)	p valor (p<0.05)
Gênero (feminino)	81 (56.25%)	4 (2.77%)	0.648
Sinais ou sintomas			
Pródromo*	26 (18.05%)	3 (2.08%)	0,055
Idade de início das crises > 25 anos	21 (14.58%)	0 (0.00%)	1
Alergia a DAEs	15 (10.41%)	1 (0.69%)	0,45
História clínica de neuroinfecção	15 (10.41%)	0 (0.00%)	1
Refratariedade	107 (74,30%)	5 (3.47%)	0,586
História de EME	30 (20.83%)	3 (2.08%)	0,079
História pessoal de autoimunidade	15 (10.41%)	0 (0.00%)	1
Crises febris	18 (12.5%)	2 (1.38%)	0,141
Câncer ou tumor	21 /14.58%)	0 (0.00%)	1
Distúrbio do movimento**	4 (2.77%)	0 (0.00%)	1
Declínio cognitivo	51 (35.41%)	1 (0.69%)	0,653
Psicose	31 (21.52%)	1 (0.69%)	1
Alteração do ciclo vigília/sono	27 (18.75%)	1 (0.69%)	1

*Pródromo viral antes do início da primeira crise epilética (rinorreia, dor de garganta, febre baixa).

Distúrbio do movimento: foram incluídos a coreia e as discinesia. **Legenda: n, número; DAEs, drogas antiepiléticas; Ac, anticorpos; EME, estado de mal epilético.

Não encontramos diferenças significativas quando comparamos os estudos paraclínicos realizados com esse grupo de pacientes. A atividade epileptiforme focal foi frequente nos pacientes com anticorpos positivos e negativos, seguida de atividade lenta focal. Dos 5 pacientes com anticorpos positivos todos apresentavam esclerose hipocampal na ressonância magnética cerebral, com resultado quase significativo quando comparamos com pacientes com negatividade para esses anticorpos. A coleta de LCR não foi realizada na maioria dos pacientes deste grupo, o que inclui aqueles que obtiveram resultados positivos para os anticorpos testados (tabela 29).

Tabela 29. Diferenças dos paraclínicos de pacientes com epilepsia e anticorpos negativos vs. Positivos.

Variável (n)	Ac (-) n = 139 (%)	Ac (+) n = 5 (3.6%)	p valor (p<0.05)
Paraclínicos			
EEG anormal	133 (92.36%)	4(2.77%)	0,223
Distúrbio da atividade de base	13 (9.02%)	0 (0.00%)	1
Atividade epileptiforme focal	103 (71.52%)	5 (3.47%)	0,331
Atividade epileptiforme generalizada	29 (20.13%)	1 (0.69%)	1
Atividade lenta focal	83 (57.86%)	2 (1.38%)	0,400
Status epilepticus	1 (0.69%)	0 (0.00%)	1
<i>Extreme delta brush</i>	0 (0.00%)	0 (0.00%)	1
Atividade periódica	2 (1.38%)	0 (0.00)	1
RM negativa	46 (31.94%)	0 (0.00)	0,177
Esclerose hipocampal	76 (52.77%)	5 (3.47%)	0,067
Displasia cortical focal	20 (13.88%)	0 (0.00%)	1
Tumor	5 (3.47%)	0 (0.00%)	1
LCR anormal	-	-	-

Legenda: AC (-), anticorpo negativo; EEG, eletroencefalograma; RM, ressonância magnética; LCR, líquido cefalorraquidiano.

5. DISCUSSÃO

O reconhecimento de uma etiologia autoimune na encefalite e na epilepsia assumiu grande importância nos últimos anos, principalmente devido ao impacto no tratamento e na evolução dessas doenças após o diagnóstico.

Em nosso estudo, procuramos avaliar a frequência relativa e as diferenças desses grupos de pacientes com doenças relacionadas entre si, nas quais é possível encontrar uma causa autoimune. Também queríamos avaliar se era possível propor um método mais simples para realizar esse diagnóstico com base nos dados clínicos obtidos. Assim, desenvolvemos uma escala preditiva e um modelo probabilístico, ambos baseados nas principais características clínicas encontradas em nossos pacientes, que podem ser facilmente utilizados na avaliação neurológica inicial de pacientes com encefalite, a fim de oferecer um diagnóstico clínico presuntivo e tratamento precoce, enquanto os resultados específicos dos anticorpos são esperados. O modelo de diagnóstico proposto não consegue distinguir entre os subtipos de anticorpos, mas é importante continuar investigando para fins de refinamento terapêutico e prognóstico.

Nós encontramos uma diferença significativa entre o grupo de pacientes com encefalite e o grupo de pacientes com epilepsia, demonstrando que pacientes com os critérios clínicos de possível encefalite autoimune de Graus (2), embora consideramos que são critérios vagos, têm maior probabilidade de apresentar anticorpos positivos do que pacientes com epilepsia (4, 24). Porém, a presença desses anticorpos não indica necessariamente doença, exigindo o apoio clínico que corresponde ao anticorpo identificado para concluir o diagnóstico (24), e, no caso de epilepsia, a presença desses anticorpos não indica necessariamente que eles tiveram encefalite autoimune prévia.

5.1. Encefalite autoimune

A maioria dos artigos escritos até hoje que definem os diferentes subtipos de encefalite autoimune são revisões sistemáticas das séries de casos descritas (72) e poucos propuseram critérios para o diagnóstico de encefalite autoimune (2, 73). Os primeiros critérios de diagnóstico propostos para encefalite autoimune dependiam muito dos testes de anticorpos e da resposta à imunoterapia (72, 73). Em nossa opinião, não é realista incluir o estado dos anticorpos como parte dos critérios de diagnóstico precoce, pois os testes de anticorpos não são facilmente acessíveis em muitas instituições e os resultados podem levar várias semanas para serem obtidos. Além disso, a ausência de autoanticorpos não exclui a possibilidade de um distúrbio ser de causa imunomediada, e um teste positivo nem sempre implica um diagnóstico preciso. O uso da resposta à imunoterapia como parte dos critérios diagnósticos também é pouco prático, pois essas informações não estão disponíveis no momento do início dos sintomas ou na avaliação clínica precoce. Alguns pacientes com encefalite autoimune podem não responder à imunoterapia ou precisam de terapias intensivas e prolongadas que não estão disponíveis na maioria dos serviços de saúde, a menos que um diagnóstico firme tenha sido estabelecido (64).

Recentemente, foi realizado um consenso de especialistas na área que conduziram uma revisão sistemática da literatura e reuniram toda sua experiência na área com o objetivo de desenvolver uma abordagem diagnóstica prática para encefalite autoimune com base em avaliação neurológica e testes convencionais acessíveis para a maioria dos médicos, alcançando, através do diagnóstico diferencial lógico, atingir níveis de evidência de encefalite autoimune com critérios para defini-la como possível, provável ou definitiva (2). Em relação a este estudo, observamos algumas limitações:

- Não foi validado retrospectivamente ou prospectivamente.
- A sensibilidade ou especificidade das variáveis clínicas utilizadas nos casos com anticorpos positivos não foi avaliada.

Além disso, consideramos que os critérios de encefalite autoimune possível que os autores definiram é muito vago, e precisam ser melhor definidos.

Nenhuma dessas publicações foi direcionada para criar uma escala ou um modelo preditivo, e as criadas atualmente foram direcionadas especificamente a pacientes com epilepsia. Assim, nosso estudo é o primeiro a realizar uma escala de diagnóstico que tenta prever encefalite autoimune com sensibilidade de 71% e especificidade de 73% (tabela 21). Assim, uma série de características clínicas parece caracterizar pacientes com encefalite autoimune com anticorpos positivos, que pode ser uma ferramenta na seleção de pacientes para solicitar o teste de anticorpos. Além disso, nós conseguimos estabelecer um modelo probabilístico que pode ser utilizado na prática clínica diária (tabela 23), para auxiliar os médicos na seleção de pacientes com maior probabilidade de abrigar anticorpos neuronais e poder iniciar tratamento precoce (figura 10).

Semelhante ao consenso de especialistas, nosso modelo preditivo não é recomendado em crianças, pois elas desenvolvem uma síndrome diferente, que em geral começam com coréia e *status epilepticus*; resultados publicados preliminarmente no início de nosso estudo (74). Com a análise final, demonstramos uma diferença significativa na apresentação do quadro clínico entre crianças e adultos, assim como outros autores (75). Também foi importante destacar a presença de *extreme delta brush* apenas no grupo de pacientes com encefalite anti-R-NMDA (76), e que esses casos, embora com menor frequência do que o descrito na literatura, só foram observados em crianças.

Com os critérios previamente estabelecidos, juntamente com o reconhecimento dos anticorpos associados, a incidência de encefalite autoimune aumentou significativamente nos últimos anos. Até o momento, existem poucas investigações epidemiológicas de encefalite autoimune (4, 77) e atualmente não existem dados de investigações epidemiológicas em larga escala. Portanto, as características epidemiológicas da doença ainda não são claras.

Nosso estudo é um dos primeiros em Brasil em mostrar a frequência dessa doença. Há um estudo retrospectivo, comparativo, de base populacional, sobre a incidência e prevalência de encefalite autoimune e infecciosa, realizado no Condado de Olmsted - Minnesota, EUA, com resultados semelhantes entre os dois grupos (13,7 vs. 11,6 / 100.000 pessoa-ano) (4). A seleção dos pacientes utilizados neste estudo

foi semelhante à nossa, utilizando os critérios de possível encefalite autoimune definida por Graus et al.(2). Porém, diferentemente do primeiro, em nosso estudo a seleção dos pacientes foi realizada de forma transversal; além disso, não incluímos no diagnóstico outras causas de encefalopatias imunomediadas, como a encefalomielite aguda disseminada (ADEM) e a encefalite de Hashimoto. Este estudo realizado em 2018 (4) subdividiu pacientes, previamente selecionados como encefalite autoimune possível, de acordo com os 5 critérios clínicos de diagnóstico publicados pelo consenso de especialistas liderado por Graus, excluindo finalmente aqueles que não atendiam a esses critérios. Em nosso estudo, selecionamos os pacientes com encefalite autoimune possível, para finalmente estabelecer a porcentagem de frequência de anticorpos positivos nesse grupo, ou seja, aqueles que no estudo de Dubey et al. (4), preencheram os critérios a serem referidos como encefalite autoimune definitiva. No entanto, nosso objetivo não foi validar os subtipos de critérios clínicos analisados nesse estudo (encefalite límbica autoimune, encefalite disseminada aguda, encefalite anti-R-NMDA provável, encefalite do tronco cerebral de Bickerstaff provável, encefalopatia de Hashimoto, encefalopatia autoimune com autoanticorpo negativo), por isso não sabemos sua frequência em nosso estudo. Porém, se compararmos a frequência de anticorpos positivos no grupo selecionado com os critérios para encefalite autoimune possível, e a porcentagem no nosso estudo, o nosso foi ligeiramente menor (21,7% vs. 35,7%), semelhante a outros estudos publicados (37), onde o painel de anticorpos a ser investigado foi maior.

Essa frequência difere de um estudo multicêntrico recente realizado no sudoeste da China (77), onde dos 457 pacientes analisados com suspeita de encefalite autoimune, 41,3% apresentaram resultado positivo para os anticorpos testados (que, com exceção do GAD, analisaram os mesmos anticorpos). Este estudo fez a seleção de pacientes em uso de critérios de diagnóstico para encefalite límbica autoimune e positividade de anticorpos proposta por Graus et al. (2), que difere dos critérios de inclusão que usamos em nosso estudo (encefalite autoimune possível). Os critérios para encefalite límbica requerem a presença de sinal T2/FLAIR hiperintenso nas regiões temporais mesiais bilaterais na RM cerebral ou a presença de hipometabolismo bitemporal na PET-CT cerebral; além da possibilidade de ter um EEG com achados anormais nas regiões temporais; critérios que não estão incluídos em nosso estudo. De acordo com os critérios de inclusão da ressonância magnética

cerebral utilizados neste estudo, é surpreendente que 153 pacientes (33,4%) tenham encontrado positividade para Ac-R-NMDA, assumindo que todos esses pacientes apresentaram hipersinal nos lobos temporais, quando a literatura descreve que a RM cerebral é normal em 66% dos pacientes com esta encefalite (72). Em nosso estudo, achados anormais na RM cerebral sugestiva de encefalite foram observados em apenas 38,8% dos 18 pacientes com Ac-R-NMDA positivo.

As características clínicas e paraclínicas observadas em nossos pacientes com resultados positivos para os anticorpos analisados são semelhantes às descritas na literatura (18, 72, 73). Em nosso estudo, foi demonstrado que a encefalite Ac-R-NMDA afeta predominantemente indivíduos jovens, conforme descrito por outros autores (27), com prevalência predominante em crianças, quando comparados a adultos, e com predomínio do sexo feminino (2:1), menor, em comparação com outras séries de casos (75, 78). Em relação aos pródromos, estes estavam presentes com alta frequência no grupo 1, mas não significativos, diferente do descrito outros autores (78). A presença ou associação de tumor foi observada apenas nos casos de encefalite por Ac-R-NMDA.

Em nossos 2 casos positivos para a proteína LGI1, foram observados os dois cursos clínicos que Vogrig et al. descreveram e caracterizaram esse anticorpo, como crises facio-braquiais distônicas e epilepsia mesial temporal (5).

Houve cinco pacientes com encefalopatia subaguda e opsoclonus, dois deles positivos para R-NMDA e os outros três com resultados negativos para todos os anticorpos testados, chamando a atenção para o fato de que 2 desses pacientes com anticorpos negativos apresentaram teratoma associado. Esses casos foram incluídos como colaboração no trabalho publicado por Armangue et al. (79). Este estudo selecionou 249 pacientes com encefalite associada ao teratoma, 211 tinham anticorpos contra o receptor NMDA e 38 eram negativos para esses anticorpos. Enquanto os pacientes com anticorpos positivos raramente desenvolveram sintomas proeminentes do tronco cérebro-cerebelar, 22 (58%) pacientes com anticorpos negativos desenvolveram uma síndrome do tronco cérebro-cerebelar, que em 45% ocorreu com opsoclonus. A idade média desses pacientes foi de 28,5 anos (faixa etária de nossos pacientes), 91% eram mulheres (apenas um de nossos casos correspondia ao sexo masculino) e 74% se recuperaram completamente após o

tratamento e ressecção tumoral. Esses achados definiram um novo fenótipo paraneoplásico de opsoclonus que até recentemente era considerado idiopático ou pós-infeccioso. A tríade de idade precoce (adolescente a adulto jovem), teratoma sistêmico e a alta resposta ao tratamento caracterizam essa nova síndrome tronco encefálico. Esses dados sugerem que é possível que outros anticorpos na fisiopatologia dessa síndrome ainda não tenham sido descobertos; portanto, é importante saber como interpretar o resultado em cada caso específico, pois um teste de anticorpos negativo nem sempre implica a ausência de uma etiologia autoimune.

Alterações no EEG raramente são específicas. Reconhecemos o uso de alguns padrões de EEG no diagnóstico de formas específicas de encefalite (por exemplo, *extreme delta brush* na encefalite anti-receptor NMDA), que foi observado em 2 de nossos pacientes, todos eles crianças com Ac-R-NMDA positivo (5, 80). Este estudo também foi útil no diagnóstico diferencial de outros distúrbios (por exemplo, doença de Creutzfeldt-Jakob) (81) ou para revelar crises epiléticas subclínicas e status epilepticus não convulsivo, como já publicamos (74).

Em nosso estudo, todas as amostras de soro de casos de encefalite com anticorpos positivos foram pareadas com o LCR, e em 20 pacientes a presença desses anticorpos foi observada em ambas as amostras. Mas não foi possível obter a amostra de líquido em todos os pacientes, o que poderia ter afetado nosso resultado final, pois existe o risco de falsos negativos quando o Ac-R-NMDA é analisado apenas no soro (82), ao contrário dos anticorpos LGI1, que nem sempre estão no LCR (72, 83). Mas esse não é um motivo para realizar a abordagem de testar o soro primeiro e prosseguir com o LCR se for negativo, pois isso pode atrasar o diagnóstico. Pelo contrário, se o teste sérico for positivo, mas o LCR for negativo, ou se o quadro clínico não corresponder ao anticorpo identificado, devem ser consideradas as possibilidades de um resultado laboratorial não relacionado à síndrome ou de um resultado falso positivo, exceto para o anti-LGI1 que com frequência pode ser positivo só em soro (72, 83, 21).

5.2. Epilepsia autoimune

Decidimos analisar em nosso estudo não apenas pacientes com encefalite autoimune, mas também pacientes com epilepsia de longa duração, pois se considera que faz parte do espectro clínico de uma ampla gama de doenças neurológicas imunomediadas, incluindo encefalomielite disseminada aguda (ADEM), Encefalite de Rasmussen, distúrbios inflamatórios multissistêmicos, como sarcoidose ou lúpus eritematoso sistêmico, distúrbios neurológicos paraneoplásicos e, é claro, encefalite autoimune. A epilepsia, nesse contexto, frequentemente está presente como parte da encefalite límbica, definida pela presença de confusão, distúrbios da memória e alterações de humor, além das crises epiléticas, isso, apoiado por vários autores, neurologistas com longa experiência em epileptologia clínica, que acreditaram que estas epilepsias autoimunes deveriam ser consideradas encefalites autoimunes com características epiléticas predominantes (21).

A maioria dos relatórios que descrevem a associação de anticorpos com epilepsia estabelecida vem da era pré-NMDA, ou seja, antes de 2007. Estes foram estudos transversais, nos quais foram relatados anticorpos contra as proteínas do complexo VGKC e GAD em pequenas proporções de pacientes que apresentaram crises epiléticas como sintoma principal ou único, e sem envolvimento autoimune manifesto, enviesados com uma história extensa de epilepsia predominantemente refratária, recrutados em centros de referência terciários (84-86), e, como em nosso estudo, não foi claro se a presença ou títulos elevados de anticorpos observados são a causa subjacente da epilepsia ou simplesmente uma consequência de convulsões não controladas e qualquer dano neurológico associado.

Anos mais tarde, essa dúvida foi esclarecida por um estudo publicado em 2013 por Brenner et al. (24), que demonstrou uma prevalência significativamente maior de títulos positivos de anticorpos em pacientes com epilepsia focal de causa desconhecida do que naqueles com epilepsia focal estrutural (14,8% vs. 6,3%; $p < 0,02$), mas não especificaram os resultados observados na ressonância magnética cerebral nesses casos, portanto, não foi possível fazer uma comparação com o nosso estudo. Além disso, eles concluíram que a presença de autoanticorpos era igualmente

comum na epilepsia recém-diagnosticada e na epilepsia estabelecida, sugerindo que é improvável que seja um epifenômeno de crises epiléticas refratárias de longa data.

Desde então, vários estudos foram realizados para avaliar a recentemente chamada epilepsia autoimune, mas eles se concentraram nas epilepsias de etiologia desconhecida e nas epilepsias recém-diagnosticadas (87-89).

Diferentemente desses estudos, o nosso foi baseado em epilepsias estabelecidas ou de longa duração, selecionadas retrospectivamente, a fim de fornecer maior conhecimento da fisiopatologia dessa doença crônica com um painel de anticorpos mais atualizado para a época. Assim, em nosso estudo, a etiologia autoimune foi observada em 3,5% dos pacientes com epilepsia, a totalidade no grupo de causa estrutural (esclerose hipocampal), mas nenhum observado nas epilepsias com etiologia desconhecida (correspondente a 27,7% da população estudada). Essa prevalência de anticorpos é baixa em comparação com a de outros estudos (88, 89, 24), em parte devido à seleção de pacientes, que pode ter introduzido um viés de referência.

Vale ressaltar, que todos os casos positivos de anticorpos em nosso grupo de estudo apresentavam sinais de esclerose hipocampal na ressonância magnética cerebral, o que poderia explicar pelo menos uma parte (3,5%) desse grupo de epilepsia, sugerindo também, que a presença desses anticorpos é pouco frequente em epilepsias com outras etiologias. No entanto, para confirmar essa nova hipótese seria essencial aumentar nossa casuística de casos positivos. Essa contribuição difere do estudo publicado em 2017 por Dubey et al. (88), que incluiu 112 pacientes consecutivos, 33 com epilepsia recém-diagnosticada e 77 com epilepsia de etiologia desconhecida, onde excluíram todas as lesões estruturais do cérebro (tumor, trauma, ACV, lesões infecciosas), mas incluíram esclerose hipocampal, conseguindo estabelecer a presença de anticorpos em 20,5% dos pacientes analisados, e desse grupo 65,8% tinham esclerose hipocampal. Este estudo, como o nosso e outros publicados para o diagnóstico de epilepsia autoimune, utilizou o soro do paciente para a determinação dos anticorpos. Mas ainda continua sendo uma limitação não ter o LCR em todos os pacientes, já que como já foi discutido previamente, a presença do anti-R-NMDA pode ser observado no LCR.

Vários estudos descreveram que a seleção de testes para pesquisa de anticorpos não deve ser realizada individualmente, ou seja, direcionada a um anticorpo específico, exceto nas encefalites típicas de Ac-R-NMDA ou nas crises distônicas faciobraquiais observadas nos casos com anticorpos anti-LGI1. Portanto, eles recomendam o método utilizado no presente estudo, o ensaio baseado em células transfectadas (21, 90). No entanto, não analisamos uma grande variedade de anticorpos, uma vez que os que usamos são os chamados “anticorpos de alto nível”, que são reprodutivamente específicos e sensíveis ao tratamento, com exceção do anti-GAD, que tem sido considerado como um “anticorpo de baixo nível” por não atender a ambos os critérios (21), como foi observado em um de nossos casos com epilepsia autoimune anti-GAD positiva. Ele cursava concomitantemente com diabetes mellitus tipo 1 e ataxia cerebelar, e ambas as doenças podem ter a presença desse anticorpo; embora nos casos com envolvimento neurológico, os títulos desses anticorpos devem ser 100 vezes maiores que o esperado, como foi encontrado neste caso específico, portanto, nós levantamos a hipótese de que a epilepsia pode ser um epifenômeno da resposta imune sistêmica. Além disso, consideramos necessário estabelecer um consenso para definir o melhor método e os valores de anticorpos anti-GAD para considerar o diagnóstico de epilepsia autoimune associada a esse anticorpo, já que apesar de que já está descrito que altos títulos de GAD têm uma alta especificidade para a autoimunidade neurológica, que deve exceder em cerca de 100 vezes às da DM tipo 1 (60), vários outros estudos não usaram esse ponto de corte para determinar o que é patológico (24). Mas também, existem estudos que utilizam métodos qualitativos como o imunofluorescência indireta do neuropilo do cérebro do rato para estabelecer o diagnóstico, e que pode estar associado a patologias nas quais a presença desse anticorpo já foi demonstrada, como a DM tipo 1, previamente descrita, ataxia autoimune e a síndrome da pessoa rígida (91).

Apesar do baixo número de casos positivos para esses anticorpos, observamos que as características clínicas predominantes nos pacientes com anticorpos positivos foram os pródromos e histórico de *status epilepticus*, mas sem diferenças estatísticas.

Outros estudos e revisões sistemáticas também descrevem pródromos como umas das manifestações típicas da epilepsia autoimune, mas apontam a presença

associada de disautonomia e distúrbios neuropsiquiátricos como os motivos que também caracterizam essa doença (21, 88), e que não foram frequentes em nossos pacientes. Também, pelos baixos resultados positivos obtidos em nosso trabalho, não foi possível realizar uma análise estatística semelhante à realizada no grupo encefalite, e, portanto, não foi possível determinar uma escala de diagnóstico ou modelo preditivo. Porém, ao analisar a escala pré-existente e publicada em 2017 por Dubey et al., que classifica as principais características clínicas fornecendo uma pontuação para cada uma dessas variáveis de acordo com sua importância ou associação com anticorpos, observamos que elas fornecem um valor de 2 pontos para as crises refratárias e outros 2 pontos para achados de hiperintensidade em T2 / FLAIR na região temporal mesial observada na RM cerebral, entre outras variáveis utilizadas (88). E, de acordo com os autores, uma pontuação ≥ 4 no APE Score (Anticorpo Prevalence in Epilepsy) pode ser uma ferramenta para selecionar pacientes para o teste de anticorpos (especificidade: 82,0%; sensibilidade: 82,6%). No entanto, propomos que, se levarmos em consideração o exposto, todos os pacientes com ELT refratária associada a esclerose hipocampal deveriam ser selecionados para fazer o teste de anticorpos. Assim, com base nesse score, torna-se mais importante a hipótese descrita anteriormente com base em nossos resultados, de que a presença desses anticorpos é mais frequente nas epilepsias com esclerose hipocampal.

5.3. Considerações finais

Nosso estudo tem as seguintes limitações. Primeiro, o tamanho da amostra do presente estudo foi insuficiente. No entanto, como o número de casos foi pequeno para certos tipos de encefalite autoimune de baixa incidência, como a encefalite relacionada a anticorpos anti-LGI1 e anti-GAD, é difícil realizar uma análise estatística desses resultados, além dos outros anticorpos que não foram detectados com os testes utilizados. O mesmo ocorreu com os pacientes com epilepsia estabelecida, que devido ao pequeno número de anticorpos positivos, não foi possível realizar uma análise estatística para propor um modelo preditivo ou compará-lo com os existentes (88, 89).

Em segundo lugar, o desenho retrospectivo de pacientes com epilepsia limitou a possibilidade de determinar outras variáveis clínicas relevantes (por exemplo, questionar sobre a ocorrência de uma encefalite herpética prévia, melhor caracterização de distúrbios do movimento no início da doença e sua relação com os DAEs utilizados, entre outros).

Atualmente, vários anticorpos foram testados em outros estudos, além dos 7 anticorpos mencionados em nosso trabalho. No entanto, ao revisar esses estudos, tanto para a análise de pacientes com encefalite autoimune, quanto em pacientes com epilepsia, observamos que o maior número de anticorpos não aumenta significativamente a frequência de positividade de anticorpos, já que existe uma frequência muito maior dos 7 anticorpos pesquisados em nosso estudo, assim como em outros trabalhos (24, 88, 89), e baixa ou rara frequência dos anticorpos onconeurais (Hu, Ma, Cv2, anfifisina).

É por isso que consideramos que o número de anticorpos analisados aqui não é uma limitação importante. No entanto, como já foi dito, foi obtida uma baixa taxa de referência de amostras de LCR emparelhadas com soro, principalmente no grupo de epilepsia, o que poderia ter afetado a sensibilidade.

6. CONCLUSÕES

- A frequência de anticorpos positivos foi significativamente maior no grupo de pacientes com possível encefalite autoimune (Grupo 1) (21,7% versus 3,5 %).
- Encefalite anti-R-NMDA foi mais frequente em nossa série, sendo mais comum no sexo feminino (5:1) e em crianças.
- O repertório de encefalite autoimune em crianças é diferente dos adultos.
- A presença de um quadro subagudo de alteração comportamental, crise epiléptica, distúrbio do movimento, alteração da consciência, hipoventilação/disautonomia e alteração de ciclo vigília/sono em conjunto foi preditivo para anticorpos positivos no grupo 1 (ROC 82%), confirmando que o diagnóstico destas encefalites é clínico, e a prova dos anticorpos é confirmatória.
- Não houve relação significativa entre alterações na ressonância magnética e presença de anticorpos no grupo 1.
- A presença de sintomas prodrômicos e história de estado de mal epiléptico, em conjunto com a RM cerebral mostrando esclerose hipocampal foram as características principais observadas nos pacientes do grupo 2 (epilepsia estabelecida) com anticorpos positivos.
- Todos os pacientes com anticorpos positivos no grupo 2 (epilepsia estabelecida) apresentavam esclerose hipocampal, sugerindo que a etiologia autoimune pode estar associada a pelo menos 3,5% das epilepsias estabelecidas com esclerose hipocampal, porém a relação de causa-efeito é incerta.

7. REFERÊNCIAS

1. Mark Ellul, Tom Solomon. Acute encephalitis – diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*. 2018 Apr; 18(2): 155–159.
2. Graus F, Titulaer M, Balu R, Benseler S, Bien C, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 2016; 15: 391–404.
3. Dalmau J, Graus F. Antibody-Mediated Encephalitis. *N Engl J Med* 2018;378:840-51.
4. Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR et al. Autoimmune encephalitis and a comparison to infectious encephalitis. *Ann Neurol* 2018; 83: 166–77.
5. Vogrig A, Joubert B, et al. Seizure specificities in patients with antibody-mediated autoimmune encephalitis. *Epilepsia*. 2019;00:1-18.
6. Corsellis JA, Goldberg GJ, Norton AR. “Limbic encephalitis” and its association with carcinoma. *Brain* 1968; 91: 481–96.
7. Dalmau J, Graus F, Villarejo A, et al. Clinical analysis of anti-Ma2-associated encephalitis. *Brain* 2004; 127: 1831–44.
8. Lorraine C. Pelosof and David E. Gerber. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(9):838-854.
9. Barber PA, Anderson NE, Vincent A. Morvan’s syndrome associated with voltage-gated K channel antibodies. *Neurology* 2000; 54: 771–2.
10. Buckley C, Oger J, Clover L et al. Potassium channel antibodies in two patients with reversible limbic encephalitis. *Ann Neurol* 2001; 50: 73–8.
11. Salvin A, Glanzman J, Roslin K et al. Anti-NMDA receptor encephalitis and nonencephalitic HSV-1 infection. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2018; 5: e458.
12. Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Dalmau J. Encephalitis and antibodies to synaptic and neuronal cell surface proteins. *Neurology* 2011; 77, 179–89.
13. Vitaliani R, Mason W, Ances B et al Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Ann Neurol* 2005; 58: 594–604.
14. Salvin A, Glanzman J, Roslin K et al. Anti-NMDA receptor encephalitis and nonencephalitic HSV-1 infection. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2018; 5: e458.

15. Lai M, Huijbers MG, Lancaster E et al. Investigation of LGI1 as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: a case series. *Lancet Neurol* 2010; 9: 776–85).
16. Irani SR, Alexander S, Waters P et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain* 2010 133: 2734–48.
17. Lancaster E, Huijbers MG, Bar V et al. Investigations of CASPR2, an autoantigen of encephalitis and neuromyotonia. *Ann Neurol* 2011; 69: 303–11.
18. Goodfellow J, Mackay G. Autoimmune encephalitis. *JR Coll Physicians Edinb* 2019;49:287-94.
19. Fisher R, et al. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE).
20. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4):676-685, 2010.
21. Bien C, Martin H. "Autoimmune Epilpsy": Encephalitis With Autoantibodies for Epileptologist. *Epilepsy Curr.* 2017 May-Jun;17(3):134-141.
22. Bien C, Immune epilepsies – an emerging new etiology. International Epilepsy Congress - Montreal, 2013.
23. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commision for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58(4):512-521,2017.
24. Brenner T, Sills GJ, Hart Y, Howell S, Waters P, Brodie MJ, Vincent A, Lang B. Prevalence of neurologic autoantibodies in cohorts of patients with new and established epilepsy. *Epilepsia*, 54(6), 1028–1035, 2013.
25. Toledano M, and Pittock S. Autoimmune Epilepsy. *Semin Neurol* 2015;35:245-258.
26. Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol.* 2011;10:63–74.

27. Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, Rossi JE, Peng X, Lai M, et al. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol.* 2008;7:1091–8.
28. Gillinder L, Warren N, Hartel G, Dionisio S, O'Gorman C. EEG findings in NMDA encephalitis - A systematic review. *Seizure.* 2019;65:20–4.
29. Liu X, Bo Y, Wang R, Li C, Chen C, Zhou D, et al. Seizure outcomes in patients with anti-NMDAR encephalitis: a follow-up study. *Epilepsia.* 2017;58:2104–11.
30. Favier M, Joubert B, Picard G, Rogemond V, Thomas L, Rheims S, et al. Initial clinical presentation of young children with N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Eur J Paediatr Neurol.* 2018;22:404–11.
31. Viaccoz A, Desestret V, Ducray F, Picard G, Cavillon G, Rogemond V, et al. Clinical specificities of adult male patients with NMDA receptor antibodies encephalitis. *Neurology.* 2014;82:556–63.
32. Sonderen AV, Arends S, Tavy DLJ, Bastiaansen AEM, Bruijn M, Schreurs MWJ, et al. Predictive value of electroencephalography in anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018;89:1101–6.
33. Se S, Pargeon K, Es F, Lj H, Dalmau J, Friedman D. Extreme delta brush: a unique EEG pattern in adults with anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology.* 2012;79:1094–100.
34. Baykan B, Gungor Tuncer O, Vanli-Yavuz EN, Baysal Kirac L, Gundogdu G, Bebek N, et al. Delta Brush Pattern Is Not Unique to NMDAR Encephalitis: Evaluation of Two Independent Long-Term EEG Cohorts. *Clin EEG Neurosci.* 2018;49:278–84.
35. van Sonderen A, Thijs RD, Coenders EC, Jiskoot LC, Sanchez E, de Bruijn MA, et al. Anti-LGI1 encephalitis: clinical syndrome and long-term follow-up. *Neurology.* 2016;87:1449–56.
36. Vogrig A, Pauletto G, Lettieri C, Valente M, Gigli GL. Peculiar EEG signatures, ictal drinking and long-term follow-up in anti-LGI1 encephalitis. *Neurol Sci.* 2019;40(7):1503–5.
37. Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichman AJ, Shu H, et al. AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol.* 2009;65:424–34.

38. Naasan G, Irani SR, Bettcher BM, Geschwind MD, Gelfand JM. Episodic Bradycardia as Neurocardiac Prodrome to Voltage-Gated Potassium Channel Complex/Leucine-Rich, Glioma Inactivated 1 Antibody Encephalitis. *JAMA Neurol.* 2014;71:1300–4.
39. Irani SR, Michell AW, Lang B, Pettingill P, Waters P, Johnson MR, et al. Faciobrachial dystonic seizures precede Lgi1 antibody limbic encephalitis. *Ann Neurol.* 2011;69:892–900.
40. Steriade C, Mirsattari SM, Murray BJ, Wennberg R. Subclinical temporal EEG seizure pattern in LGI1-antibody-mediated encephalitis. *Epilepsia.* 2016;57:e155–60.
41. Berghuis B, de Haan G-J, van den Broek MPH, Sander JW, Lindhout D, Koeleman BPC. Epidemiology, pathophysiology and putative genetic basis of carbamazepine- and oxcarbazepine-induced hyponatremia. *Eur J Neurol.* 2016;23:1393–9.
42. Irani SR, Stagg CJ, Schott JM, Rosenthal CR, Schneider SA, Pettingill P, et al. Faciobrachial dystonic seizures: the influence of immunotherapy on seizure control and prevention of cognitive impairment in a broadening phenotype. *Brain.* 2013;136:3151–62.
43. Navarro V, Kas A, Apartis E, Chami L, Rogemond V, Levy P, et al. Motor cortex and hippocampus are the two main cortical targets in LGI1-antibody encephalitis. *Brain.* 2016;139:1079–93.
44. Thieben MJ, Lennon VA, Boeve BF, Aksamit AJ, Keegan M, Vernino S. Potentially reversible autoimmune limbic encephalitis with neuronal potassium channel antibody. *Neurology* 2004;62(7): 1177–1182.
45. van Sonderen A, Ariño H, Petit-Pedrol M, Leypoldt F, Körtevelyessy P, Wandinger K-P, et al. The clinical spectrum of Caspr2 antibody-associated disease. *Neurology.* 2016;87:521–8.
46. Joubert B, Saint-Martin M, Noraz N, Picard G, Rogemond V, Ducray F, et al. Characterization of a Subtype of Autoimmune Encephalitis With Anti-Contactin-Associated Protein-like 2 Antibodies in the Cerebrospinal Fluid, Prominent Limbic Symptoms, and Seizures. *JAMA Neurol.* 2016;73:1115–24.

47. van Sonderen A, Leypoldt F, Houghton D, Geschwind M, Gelfand J, et al. Encephalitis and AMPA receptor antibodies: novel findings in a case series of 22 patients. *Neurology*. 2015;84:2403–12.
48. Graus F, Boronat A, Xifro X, et al. The expanding clinical profile of anti-AMPA receptor encephalitis. *J Neuroimmunol* 2013;261:129-133.
49. Petit-Pedrol M, Armangue T, Peng X, Bataller L, Cellucci T, Davis R, et al. Encephalitis with refractory seizures, status epilepticus, and antibodies to the GABAA receptor: a case series, characterization of the antigen, and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol*. 2014;13:276–86.
50. Spatola M, Petit-Pedrol M, Simabukuro MM, Armangue T, Castro FJ, Barcelo Artigues MI, et al. Investigations in GABAA receptor antibody-associated encephalitis. *Neurology*. 2017;88:1012–20.
51. Lancaster E, Lai M, Peng X, Hughes E, Constantinescu R, Raizer J, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: case series and characterization of the antigen. *Lancet Neurol*. 2010;9:67–76.
52. Höftberger R, Titulaer MJ, Sabater L, Dome B, Rozsas A, Hegedus B, et al. Encephalitis and GABAB receptor antibodies: novel findings in a new case series of 20 patients. *Neurology*. 2013;81:1500–6.
53. Maureille A, Fenouil T, Joubert B, Picard G, Rogemond V, Pinto A-L, et al. Isolated seizures are a common early feature of paraneoplastic anti-GABAB receptor encephalitis. *J Neurol*. 2019;266:195–206.
54. Saiz A, Blanco Y, Sabater L, González F, Bataller L, Casamitjana R, et al. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. *Brain*. 2008;131:2553–63.
55. Falip M, Carreño M, Miró J, Saiz A, Villanueva V, Quílez A, et al. Prevalence and immunological spectrum of temporal lobe epilepsy with glutamic acid decarboxylase antibodies. *Eur J Neurol*. 2012;19:827–33.
56. Malter MP, Helmstaedter C, Urbach H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. *Ann Neurol*. 2010;67:470–8.
57. Ariño H, Höftberger R, Gresa-Arribas N, Martínez-Hernández E, Armangue T, Kruer MC, et al. Paraneoplastic Neurological Syndromes and Glutamic Acid Decarboxylase Antibodies. *JAMA Neurol*. 2015;72:874–81.

58. Mäkelä K-M, Hietaharju A, Brander A, Peltola J. Clinical Management of Epilepsy With Glutamic Acid Decarboxylase Antibody Positivity: the Interplay Between Immunotherapy and Anti-epileptic Drugs. *Front Neurol*. 2018;9:579.
59. Nakajima H, Nakamura Y, Inaba Y, Tsutsumi C, Unoda K, Hosokawa T, et al. Neurologic disorders associated with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies: a comparison of anti- GAD antibody titers and time-dependent changes between neurologic disease and type I diabetes mellitus. *J Neuroimmunol*. 2018;317:84–9.
60. Daif A, Lukas RV, Issa NP, Javed A, VanHaerents S, Reder AT, et al. Antiglutamic acid decarboxylase 65 (GAD65) antibody associated epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2018;80:331–6.
61. Liimatainen S, Peltola M, Sabater L, Fallah M, Kharazmi E, Haapala AM, et al. Clinical significance of glutamic acid decarboxylase antibodies in patients with epilepsy. *Epilepsia* 2010;51:760–7.
62. Saiz A, Blanco Y, Sabater L, Gonzalez F, Bataller L, Casamitjana R, et al. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. *Brain* 2008;131:2553–63.
63. Nemni R, Braghi S, Natali-Sora MG, Lampasona V, Bonifacio E, Comi G, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in palatal myoclonus and epilepsy. *Ann Neurol* 1994;36:665–7.
64. Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangue T, Glaser C, Izuka T, et al. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol*. 2013;12:157–65.
65. Armangue T, Titulaer MJ, Málaga I, Bataller L, Gabilondo I, Graus F, et al. Pediatric anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis-clinical analysis and novel findings in a series of 20 patients. *J Pediatr*. 2013;162(850–856):e2.
66. Rocamora R, Becerra JL, Fossas P, Gomez M, Vivanco-Hidalgo RM, Mauri JA, et al. Pilomotor seizures: an autonomic semiology of limbic encephalitis? *Seizure*. 2014;23:670–3.

67. Cg B, Mirzadjanova Z, Baumgartner C, Onugoren MD, Grunwald T, Holtkamp M, et al. Anti-contactin-associated protein-2 encephalitis: relevance of antibody titres, presentation and outcome. *Eur J Neurol*. 2017;24:175–86.
68. Joubert B, Kerschen P, Zekeridou A, Desestret V, Rogemond V, Chaffois M-O, et al. Clinical Spectrum of Encephalitis Associated With Antibodies Against the α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4- Isoxazolepropionic Acid Receptor: case Series and Review of the Literature. *JAMA Neurol*. 2015;72:1163–9.
69. Hoftberger R, van Sonderen A, Leypoldt F, Houghton D, Geschwind M, Gelfand J, et al. Encephalitis and AMPA receptor antibodies: novel findings in a case series of 22 patients. *Neurology*. 2015;84:2403–12.
70. Dogan Onugoren M, Deuretzbacher D, Haensch CA, Hagedorn HJ, Halve S, Isenmann S, et al. Limbic encephalitis due to GABAB and AMPA receptor antibodies: a case series. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 2015;86:965–72.
71. Boronat A, Sabater L, Saiz A, Dalmau J, Graus F. GABA(B) receptor antibodies in limbic encephalitis and anti-GAD-associated neurologic disorders. *Neurology*. 2011;76:795–800.
72. Leypoldt F, Armangue T, Dalmau J. Autoimmune encephalopathies. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1338: 94–114.
73. Zuliani L, Graus F, Giometto B, Bien C, Vincent A. Central nervous system neuronal surface antibody associated syndromes: review and guidelines for recognition. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83: 638–45.
74. Lizcano A, de Souza D, de Albuquerque M, et al., Anti-NMDAR encephalitis: a rare cause of status epilepticus and chorea in children. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2013; 19 (3): 55-60.
75. Florance NR, Davis RL, Lam C, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol*. 2009;66(1):11–18.
76. Moise A, et al. Continuous EEG findings in autoimmune encephalitis. *J Clin Neurophysiol* 2019;00:1-6.
77. Gu Y, Zhong M, He L, et al. Epidemiology of Antibody-Positive Autoimmune Encephalitis in Southwest China: A Multicenter Study. *Front Immunol*. 2019;10:2611.

78. Wandinger K-P, Saschenbrecker S, Stoecker W, Dalmau J. Anti-NMDA-receptor encephalitis: A severe, multistage, treatable disorder presenting with psychosis. *Journal of Neuroimmunology* 2011; 231: 86-91.
79. Armangue T, Titulaer MJ, Sabater L, et al. A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma. *Ann Neurol*. 2014;75(3):435–441.
80. Montenegro MA, Lizcano A, Cendes F, et al. Extreme Delta Brushes in Pediatric Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis. *J Neurol Neurosci*. 2015, S1.
81. Lizcano A, de Albuquerque M, Cendes F. Clinical, EEG and MRI evolution in Creutzfeldt-Jakob disease. *JECN* 2016;22(1):17-24.
82. Rui Wang, Hong-Zhi Guan, Hai-Tao Ren, Wei Wang, Zhen Hong, Dong Zhou. CSF findings in patients with anti-N-methyl-D-aspartate receptor-encephalitis. *Seizure* 29 (2015) 137–142.
83. Leypoldt F, Wandinger KP, Bien CG, Dalmau J. Autoimmune Encephalitis. *Eur Neurol Rev*. 2013 Summer; 8(1):31-37.
84. Kwan P, Sills GJ, Kelly K, Butler E, Brodie MJ. (2000) Glutamic acid decarboxylase autoantibodies in controlled and uncontrolled epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Res* 42:191–195.
85. McKnight K, Jiang Y, Hart Y, Cavey A, Wroe S, Blank M, Shoenfeld Y, Vincent A, Palace J, Lang B. (2005) Serum antibodies in epilepsy and seizure-associated disorders. *Neurology* 65:1730–1736.
86. Majoie M, de Baets M, Renier W, Lang B, Vincent A. (2006) Antibodies to voltage-gated potassium channels in epilepsy. *Epilepsy Res* 71: 135–141.
87. Ramanathan S, Bleasel A, Parratt J, et al. Characterisation of a syndrome of autoimmune adult onset focal epilepsy and encephalitis. *J Clin Neurosci*. 2014;21(7):1169-1175, -- 76, 77.
88. Dubey D, Alqallaf A, Hays R, et al. Neurological Autoantibody Prevalence in Epilepsy of Unknown Etiology. *JAMA Neurol*. 2017;74(4):397-402.
89. Dubey D, Singh J, Britton JW, Pittock SJ, Flanagan EP, et al. Predictive models in the diagnosis and treatment of autoimmune epilepsy. *Epilepsia*, 58(7):1181–1189, 2017, -- 24.
90. Dahm L, Ott C, Steiner J, Stepniak B, Teegen B, et al. Seroprevalence of autoantibodies against brain antigens in health and disease. *Ann Neurol*. 2014 Jul; 76(1):82-94.

91. Podewils F., et al. Prevalence and outcome of late-onset seizures due to autoimmune etiology: A prospective observational population-based cohort study. *Epilepsia*, 58(9):1542-1550, 2017.

ANEXOS

Anexo 1



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

CEP, 02/05/11
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 225/2011 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0169.0.146.000-11

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "INVESTIGAÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA ÁCIDO GLUTÂMICO DESCARBOXILASE (ANTI-GAD), CANAIS DE POTÁSSIO VOLTAGEM DEPENDENTES (ANTI-VGKC) E RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO (ANTI-NMDA) EM PACIENTES COM ENCEFALITE LÍMBICA E PACIENTES COM EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Angélica Del Pilar Lizcano Meneses

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 05/04/2011

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 26/04/12 (O formulário encontra-se no site acima).

II – OBJETIVOS.

Este projeto tem como objetivo geral avaliar a frequência e importância dos anticorpos anti-GAD, anti-VGKC e anti-NMDA, como explicação da encefalite límbica e da epilepsia do lobo temporal e correlacionar os resultados obtidos com os achados clínicos dessas duas doenças.

III – SUMÁRIO.

Trata-se de um estudo prospectivo e retrospectivo, transversal do perfil imunológico dos anticorpos anti-GAD, anti-VGKC e anti-NMDA de pacientes com diagnóstico de encefalite límbica (EL) e epilepsia do lobo temporal (ELT) atendidos no HC/UNICAMP. Serão avaliados pelo menos 30 pacientes, 10 com EL e 20 com ELT, de ambos os sexos, adultos e menores de 18 anos. Os critérios de inclusão/exclusão são claros e adequados bem como as metodologias e casuística empregadas.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES.

Após análise crítica do protocolo não encontramos riscos ou prejuízos para os sujeitos da pesquisa (possibilidade e gravidade). Os autores do projeto se mostram com o compromisso de cumprir as exigências da Resolução 196/96 e suas complementares. O trabalho está elaborado dentro das normas éticas e científicas. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é adequado.

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br



**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

V - PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

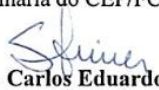
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na IV Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 26 de abril de 2011.


Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

PHONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

Anexo 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Conforme resolução 196/96 e 347/2005

Título do Projeto:

"Investigação dos anticorpos contra o Ácido Glutâmico Descarboxilase (anti-GAD), os Canais de Potássio Voltagem Dependentes (anti-VGKC) e Receptor N-Metil-D-Aspartato (anti-NMDA) em pacientes com Encefalite Límbica e pacientes com Epilepsia de Lobo Temporal"

Pesquisadora principal: Angélica Lizcano, RM-E: 1792-04

Orientador: Dr. Fernando Cendes, CRM: 54896

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu _____ entendo que fui convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa que envolve pacientes com suspeita de encefalite autoimune e em pacientes com epilepsia. Entendo o objetivo principal do estudo de avaliar a frequência e importância dos anticorpos que possam causar encefalite límbica e epilepsia de lobo temporal. A identificação desses anticorpos poderia, eventualmente, melhorar o diagnóstico e levar a um melhor tratamento a futuro dessas doenças.

PROCEDIMENTO

Eu entendo que e que se aceito participar neste estudo, os pesquisadores participantes farão um interrogatório dos meus antecedentes médicos e familiares, serei submetido a exame de ressonância magnética cerebral, e será coletada de mim 10-20 mL de sangue periférico para a realização de estudos imunológicos.

Eu fui informado (a) que a ressonância magnética (RM) cerebral é um estudo de imagem não invasivo que ajuda aos médicos diagnosticar algumas enfermidades neurológicas. Eu fui informado que eu serei situado (a) em uma maca que me levará lentamente para dentro do aparelho de ressonância magnética, e que me poderei comunicar com o pessoal técnico e médico durante todo o procedimento mediante um alto falante dentro do campo magnético, e que durante todo o tempo esse pessoal poderá ver-me, ouvir-me e falar comigo, para que em caso de eu sentir mal durante o estudo possa ser removido(a) se for preciso. Eu fui aconselhado (a) de não movimentar-me durante o estudo que poderá durar aproximadamente 45 minutos. Durante a primeira parte do exame escutarei ruídos por alguns minutos, tipo marteladas, enquanto o aparelho faz as imagens do meu cérebro. O restante do procedimento será relativamente silencioso.

Dependendo dos resultados dos estudos imunológicos no soro, e de houver indicação médica é provável que seja chamado pelos pesquisadores para coleta de 10 mL do líquido (obtida por punção lombar) da qual uma pequena parte do material colhido será utilizado para pesquisa de anticorpos. Para a coleta de sangue ou líquido não será necessário estar em jejum, interromper medicações utilizadas ou hospitalização.

Além disso, poderei ser submetido a um eletroencefalograma (EEG), radiografia de tórax (Rx), ultra-sonografia ou tomografia de abdômen e tórax e tomografia por emissão de pósitrons

(PET) cerebral. Estes estudos fazem parte dos cuidados médicos de rotina para um paciente com encefalite autoimune, doença que pode estar associada em alguns casos à epilepsia.

Todos os procedimentos mencionados acima serão realizados dentro dos primeiros 6 meses após o meu consentimento em participar no estudo.

VANTAGENS:

Eu entendo que não obterei nenhuma despesa, pago ou vantagem direta com minha participação voluntária durante a realização deste estudo além que o tratamento que recibo atualmente não será modificado pela pesquisadora.

O benefício de minha participação neste estudo consiste em ajudar a compreender melhor a fisiopatologia da encefalite autoimune e as epilepsias, contribuindo para o estabelecimento de diagnóstico e instituição de tratamento precoce, que pode ser útil num futuro tanto para mim como para outros pacientes que sofrem algumas destas duas doenças.

RISCOS E DESCONFORTO:

Os riscos e desconforto da coleta de sangue venoso periférico são baixos e consiste em dor local, formação de manchas roxas (equimoses) e infecção local, que pode ser minimizado por técnica asséptica, calor local e realização do procedimento por pessoal devidamente treinado.

O exame de RM cerebral não é doloroso. No entanto, eu poderei sentir desconforto por ter que permanecer imóvel durante o procedimento e pelo ruído intermitente durante o exame. Para melhorar alguns desses desconfortos o pessoal técnico me providenciará tapa-ouvidos e manterá uma comunicação constante comigo para me escutar em caso de querer desistir do estudo. Uma das principais vantagens da RM é a não utilização de radiações ionizantes (raios X), como o caso da tomografia e outros exames de imagem, já que RM utiliza um campo magnético potente (ímã), pulsos de radiofrequência, um transmissor e receptor de ondas de rádio e um computador para criar imagens detalhadas das estruturas do cérebro e sem existir efeitos nocivos associados.

A coleta do líquido será realizada nas costas (região lombar). A dor que acompanha a punção lombar é semelhante aquela da coleta de sangue. O desconforto será mínimo pois será realizada com anestesia local (Xylocaina 2 % sem vasoconstritor) por profissional treinado e devidamente habilitado para a realização de punção lombar. Após submeter-se a punção lombar, o paciente deverá permanecer em repouso absoluto em casa, por 48 horas, e aumentar a ingestão de líquidos. Este repouso é importante para evitar dor de cabeça após a punção, impossibilitando a realização das atividades habituais. Se houver dor, mesmo com o repouso de 48 horas, o paciente deverá permanecer em repouso por mais alguns dias e ingerir a medicação prescrita pelo seu médico. Este tipo de dor de cabeça não traz qualquer prejuízo ao paciente, mas necessita de repouso para desaparecer.

A coleta do líquido por utilizar agulha apresenta os riscos inerentes ao procedimento. São descritas, raramente, intercorrências da punção, como dormências transitórias e dor local. Entretanto, a incidência destas complicações é baixa. O material é descartável e as agulhas atuais (modelo 22Gx 3.5 = 70x7) são mais finas e de excelente qualidade. Caso ocorra qualquer desconforto após o procedimento, o paciente deverá contactar a equipe de atendimento do HC - UNICAMP e a equipe de pesquisa, que orientarão as medidas a serem tomadas para aliviar os sintomas, sem nenhum custo.

Em caso de que alguns achados do estudo a realizar possa representar algum benefício o risco para mim como paciente, a pesquisadora e o orientador comprometem-se a comunicar imediatamente aos médicos responsáveis do caso em particular.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

REQUERIMENTOS:

Tanto na coleta de sangue periférica e líquor existe um risco de sangramento em pessoas que recebem anticoagulantes ou que sofram doenças que cursam com trombocitopenia ou problemas de coagulação, pelo qual é importante que eu informe à pesquisadora antes de assinar. Artrose, espondilite anquilosante, xifoescioliose, cirurgia lombar prévia e doença degenerativa de disco podem dificultar o procedimento da punção lombar pelo que é preciso que a pesquisadora conheça meus antecedentes médicos e prevê soluções antes de aceitar participar no estudo.

Devo informar-lhe ao técnico ou ao médico se eu tenho algum dispositivo médico ou eletrônico em meu corpo que pode interferir no exame de RM ou assumir um potencial risco de acordo com a natureza e potencial do ímã da RM. Esses dispositivos podem ser um desfibrilador interno implantado, marcapasso cardíaco, implante coclear, clipe de cirurgia para aneurisma cerebral, válvulas cardíacas artificiais, extremidades artificiais ou próteses metálicas para as articulações, estimuladores nervosos implantáveis, parafusos, placas cirúrgicas ou qualquer outro objeto metálico em meu corpo (balas, estilhaços de ferro, etc.), que tenha sido implantado durante uma cirurgia ou alojado em meu corpo durante um acidente, pois estes podem parar de funcionar ou causar acidentes devido ao campo magnético que funciona como um ímã muito forte. Eu também devo remover todos os objetos metálicos que estiverem comigo (relógio, canetas, brincos, colares, anéis, etc.), pois estes também podem movimentar ou aquecer dentro do campo magnético. Os aparelhos dentais em geral não são afetados pelo campo magnético, mas podem alterar a imagem da área facial ou cerebral.

SIGILO:

É de meu conhecimento que o projeto de estudo seguirá os regulamentos do HC-UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica através da utilização de um código para a identificação do paciente. As informações que forem obtidas para este estudo, farão parte do meu prontuário, e só poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com epilepsia nesta instituição, podendo ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa, sem violar o sigilo esclarecido. Se os resultados ou informações fornecidas forem requeridos para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

ARMAZENAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO:

Após o estudo realizado, geralmente sobra alguma quantidade de líquor e soro (sangue), que tem a capacidade de ser avaliada em novas pesquisas futuras, sem a necessidade de realizar procedimentos de punção, com todos os seus riscos e desconfortos. Eu **autorizo** () ou **não autorizo** () o estoque de meu material biológico para estudos futuros aprovados pelo Comitê de Ética da UNICAMP, conforme resolução nº 340/2004 e 347/2005 do Conselho Nacional de Saúde.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo em qualquer momento à Dra. Angélica Lizcano ao e-mail: angelicalizcano@gmail.com ou ao Dr. Fernando Cendes ao tel. (019) 3521-8242 os quais estarão disponíveis para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso ou reclamações posso entrar em contato com a secretária do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas – Unicamp. Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 - Caixa Postal 6111 13083-887 Campinas – SP tel. (019) 3521-8936 Fax (019) 3521-7187 ou e-mail: cep@fcm.unicamp.br

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem prejudicar os cuidados médicos que recebo atualmente ou que receberei no futuro no HC-UNICAMP. Eu reconheço também que a Dra. Angélica Lizcano pode interromper a minha participação nesse estudo em qualquer momento que julgar apropriado.

Eu confirmo que o(a) Dr(a) _____ me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido, além d os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li/e ou me foi explicado, assim como compreendi este formulário de consentimento e estou em pleno acordo em participar e colaborar neste estudo.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

Data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha

Data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a _____ o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Nome do pesquisador ou associado

Assinatura do pesquisador ou associado

Data

Anexo 3



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Departamento de Neurologia

Serviço de Epilepsia

Laboratório de Neuroimagem

Laboratório de Neuroimunologia

QUESTIONÁRIO**"Investigação dos anticorpos em pacientes com suspeita de encefalite autoimune"**

Pesquisadora principal: Angélica Lizcano, RM-E: 1792-04

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cendes, CRM: 54896

Nome do médico referente:**Data:****Email do médico referente:****Outros contatos (nome e email):***"As amostras sem estes dados não serão processadas"*

POR FAVOR ENTREGAR ESTE QUESTIONÁRIO NO LNI (A/C: SÔNIA, CAROL OU MÁRCIA)

1. Nome do paciente _____ HC: _____ Leito: _____
2. Idade: _____ Raça / etnia: _____ Gênero: F (☐) M (☐)
3. Duração dos sintomas _____
4. Fator ambiental (estresse emocional ou outro) _____
5. Sintomas prodrômicos (cefaléia, febre, resfriado) _____
6. Descreva a apresentação e progressão dos sintomas _____

7. Evidência de síndrome límbica (déficit cognitivo, amnésia, crises, alteração psiquiátrica, outros) _____

8. Evidência de movimentos anormais (discinesias, mioclonias, opsoclonus/mioclonus, coreia, posturas anormais, movimentos orofaciais) _____
9. Evidência de crises epiléticas (tipo de crises) _____
10. Insônia (tipo e tempo de evolução) _____
11. Instabilidade autonômica _____
12. Hipoventilação _____
13. Síndrome cerebelar _____
14. Neuropatia sensitiva _____
15. Outras alterações _____
16. Antecedente pessoal (epilepsia, HAS, DM, Tumor /Câncer, AVC, ou outro) _____
17. Antecedentes familiares (epilepsia, HAS, DM, Tumor /Câncer, AVC, ou outro) _____
18. Resultado de LCR: células _____, glicose _____, proteínas _____, bandas oligoclonais _____, IgG (LCR) _____, IgG (soro) _____, albumina (LCR) _____, albumina (soro) _____
19. EEG -data (atividade epileptiforme, atividade lenta, ambas?, localização) _____
20. RM do cérebro -data _____
21. Evidência de tumor (localização) _____

Laboratório de Neuroimagem- Hospital das Clínicas – FCM – UNICAMP - CEP: 13083-888

Fone: +55-19-3521 8242 Fax: +55-19- 3521 7711

Laboratório de Neuroimunologia, CEP: 13083-970

Fone: +55 19 3521-6263, Fax +55 19 3521-6276

Campinas – SP – Brasil -



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Departamento de Neurologia
Serviço de Epilepsia
Laboratório de Neuroimagem
Laboratório de Neuroimunologia

22. PET-CT: _____
23. Sódio sérico Normal: (☐) Anormal (☐) _____
24. Pesquisa PCR vírus (CMV, EBV, HSV) em soro _____
25. Pesquisa PCR vírus (CMV, EBV, HSV) em LCR _____
26. HIV: Negativo (☐) Positivo (☐) _____
27. Pesquisa LES Normal: (☐) Anormal (☐) _____
28. TSH Normal: (☐) Anormal (☐) _____
29. T4-L Normal: (☐) Anormal (☐) _____
30. Ac anti-tireoglobulina Normal: (☐) Anormal (☐) _____
31. Anti-peroxidase tiroideana Normal: (☐) Anormal (☐) _____
32. Ac microssomal: Normal (☐) Anormal (☐) _____
33. VDRL/FTA-Abs (pesquisa sífilis) Negativo: (☐) Positivo (☐) _____
34. Proteína 14-3-3 Nao Realizado (☐) _____
35. Outros exames do laboratório relevantes _____
36. DAEs utilizados: PH(☐) PB(☐) CBZ(☐) VPA(☐) OXC(☐) LTG(☐) TPM(☐) GBP(☐) CLB(☐) CLZ(☐) VGT(☐)
37. Outros tratamentos (IgIV, corticóides, plasmáfereze outros): _____
38. Complicações _____
39. Indique o anticorpo que você suspeita pode estar comprometido: Hu(☐), Yo(☐), Ri(☐), CV2(☐), Ma(☐), Amphiphysin(☐), NMDAR(☐), AMPAR1(☐), AMPAR2(☐), GABAR_{B1/B2}(☐), VGKC_{LG11}(☐), VGKC_{CASPR2}(☐), GAD(☐)

Todos os pacientes devem ter pelo menos um EEG e RM cerebral

A informação deste questionário deve ser enviada por email para:

angelicalizcano@gmail.com

Obrigada.

Anexo 4



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Laboratório de Neuroimagem
Laboratório de Neuroimunologia

CUESTIONARIO

"Investigación de anticuerpos en pacientes con sospecha de encefalitis autoinmune y/o epilepsia autoinmune"

Investigadora principal: Angélica Lizcano, RM-E: 1792-04

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cendes, CRM: 54896

Nombre del médico remitente:

Fecha:

Email del médico remitente:

Otros contactos (nombre e email):

"Las muestras sin estos datos no serán procesadas"

POR FAVOR ANEXE ESTE CUESTIONARIO EN LA MUESTRA QUE ENVIARÁ

1. Iniciales del paciente _____
2. Edad: _____ Raça / etnia: _____ Género: F () M ()
3. Duración de los síntomas _____
4. Factor ambiental (estrés emocional u otro) _____
5. Síntomas prodrómicos (cefalea, fiebre, resfriado) _____
6. Describa la presentación y progresión de los síntomas _____

7. Evidencia de síndrome límbico (déficit cognitivo, amnesia, crisis, alteración psiquiátrica, otros) _____

8. Evidencia de movimientos anormales (disquinesias, mioclonias, opsoclonus-mioclono, corea, posturas anormales, movimientos orofaciales) _____
9. Evidencia de crisis epilépticas (tipo de crisis) _____
10. Insomnio (tipo e tiempo de evolución) _____
11. Inestabilidad autonómica _____
12. Hipoventilación _____
13. Síndrome cerebeloso _____
14. Neuropatía sensitiva _____
15. Otras alteraciones _____
16. Antecedente personal (epilepsia, HTA, DM, Tumor /Cancer, AVC, u otro) _____
17. Antecedentes familiares (epilepsia, HTA, DM, Tumor /Cancer, AVC, u otro) _____
18. Resultado de LCR: células____, glucosa____, proteínas____, bandas oligoclonales____, IgG (LCR)____, IgG (suero)____, albúmina (LCR)____, albúmina (suero)____
19. EEG (actividad epileptiforme, actividad lenta, ambas?, localización) _____
20. RM cerebral (*) _____
21. Evidencia de tumor (localización) _____
22. PET-CT: _____

Laboratório de Neuroimagem- Hospital das Clínicas – FCM – UNICAMP - CEP: 13083-888

Fone: +55-19-3521 8242 Fax: +55-19- 3521 7711

Laboratório de Neuroimunologia, CEP: 13083-970

Fone: +55 19 3521-6263, Fax +55 19 3521-6276

Campinas – SP – Brasil -



Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Laboratório de Neuroimagem
Laboratório de Neuroimunologia

23. Sódio sérico Normal: () Anormal () _____
24. Pesquisa PCR vírus (CMV, EBV, HSV) em soro _____
25. Pesquisa PCR vírus (CMV, EBV, HSV) em LCR _____
26. HIV: Negativo () Positivo () _____
27. Pesquisa LES Normal: () Anormal () _____
28. TSH Normal: () Anormal () _____
29. T4-L Normal: () Anormal () _____
30. Ac anti-tiroglobulina Normal: () Anormal () _____
31. Anti-peroxidase tiroideana Normal: () Anormal () _____
32. Ac microsomal: Normal () Anormal () _____
33. VDRL/FTA-Abs (pesquisa sífilis) Negativo: () Positivo () _____
34. Proteína 14-3-3 _____
35. Outros exames de laboratório relevantes _____
36. DAEs atuais: PH() PB() CBZ() VPA() OXC() LTG() TPM() GBP() CLB() CLZ() VGT()
37. Outros tratamentos (IgIV, corticoides, outros): _____
38. Complicações _____
39. Indique o anticorpo que você suspeita pode estar comprometido: Hu(), Yo(), Ri(), CV2(), Ma(), Amphiphysin(), NMDAR(), AMPAR1(), AMPAR2(), GABAR_{B1/B2}(), VGKC_{LG11}(), VGKC_{CASPR2}(), GAD()

La información de este cuestionario debe ser enviada por email para:

angelicalizcano@gmail.com

Antes del envío de las muestras!

Gracias.

Anexo 5

Paciente Epilepsia UNICAMP

Nome: _____
 HC: _____ DN: _____ Data da primeira consulta: _____
 Sexo: M () F () Procedência: _____ Naturalidade: _____
 Escolaridade: _____ Profissão: _____ Religião: _____

-Hipótese diagnóstica:**Crises:**

Idade de início: _____

Semiologia:**História de estado de mal epiléptico?**

() S
 () N
 () Não sei

Operado: S () N () não sei ()

Data da cirurgia

Reop? S () N () não sei ()

Alta pos op ____/____/____

Cx

AP

Freq de crises pré-op (10-11/mes)

() CPS
 () CPC
 () CTCG

Tinha CTCG? () S () N () não sei

Freq atual: Sem crises desde a cirurgia (Engel IA)

Medicação utilizada

() CBZ () PB () PHT () VPA
 () DZP () TPM () LMT () VGB
 () CLB () CNZ () GBP () LVT
 () OXC () outros:

Alergia? () S () N () não sei

Medicações prévias:**Outros efeitos adversos a DAEs:**

Aval Neuropsicológica: Data: () Dr. Benito

() normal () Tatila
 () alt memória verbal
 () alt memória visual
 () alt memória visual e verbal
 () outras alterações
 () não fez obs:

Dominância:

Destro () canhoto () ambidestro () não sei ()

MRI: () normal () anormal () não tem

Qual alt? _____

() AHE
 () suspeita DCF
 () tumor
 () AVC
 () encefalomalacia
 () outro

CT: () S () N () não sei (data:)

Calcificação: () S () N () não sei

CT pos op? () S () N () NA

PET não fez

() S () localizatório
 () N () não localizatório
 () não sei

Resultado:

SPECT interictal não fez

() S () localizatório
 () N () não localizatório
 () não sei

Resultado:

EEG INTERICTAL: Quantos?

() AETD _____
 () AETE _____
 () AETbilat _____
 () bissincronia _____
 () normal _____
 () OL _____
 () crise eletroclínica _____
 () outros _____

VIDEO-EEG:

() S () N () não sei

Interictal () nl () alt

Queixas cognitivas:

- () S
() N
() não sei

Quais? _____

Comorbidades autoimunes:

- () S
() N
() não sei

Quais:

Outras comorbidades:

- () S
() N
() não sei

Quais?

.

Antecedente de neoplasia:

- () S
() N
() não sei

Qual? _____

Crise Febril ? () S () N () não sei

Antecedente de infecções do SNC:

- () S
() N
() não sei

Qual?

Pais consanguíneos?

- () S () N (x) não sei

História familiar?

- () S () N () não sei

Duas tias maternas com convulsões

Sintomas psiquiátricos:

- () S
() N
() não sei

Quais?

Alteração do ciclo sono-vigília:

- () S
() N
() Não sei

Qual?

Alterações no exame físico?

- () S (x) N () não sei

Alterações no exame neurológico?

- () S () N () não sei

Auto-Anticorpos testados

- Anti- anti – R-NMDA ()
Anti-LGI1 ()
Anti-CASPR2 ()
Anti-R-AMPA1 ()
Anti-R-AMPA2 ()
Anti-R-GABAB ()
Anti-GAD ()
Onconeurais ()

Amostra coletada em:**Auto-Anticorpo positivo**

- () S
() N
() Não sei

Outros exames complementares**Impressão:**